Ueberreicht vom Verfasser.

Nicht im Buchhandel.

Die Immunitätsfrage bei der Trypanosomenkrankheit der Frösche.

Von

Polina Mendeleeff-Goldberg.

Mit 2 Tafeln und 9 Textfiguren.

Abdruck

aus dem

Archiv für Protistenkunde

begründet von Dr. **Fritz Schaudinn.**

Herausgegeben von

Dr. **M. Hartmann** und Dr. **S. von Prowazek**

Berlin. Hamburg.

Einunddreissigster Band. 1913.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Originalberichte über die Tagungen der Freien Vereinigung für Mikrobiologie.

1. Tagung in Berlin vom 7.—9. Juni 1906. (Beiheft zum Centralblatt für Bakteriologie. I. Abt., Referate, Bd. 38.) Preis: 2 Mark 40 Pf.

2. Tagung in Berlin vom 11.—13. Juni 1908. (Beiheft zum Centralblatt für Bakteriologie. I. Abt., Referate, Bd. 42.) Preis: 5 Mark.

3. Tagung in Wien vom 3.—5. Juni 1909. (Beiheft zum Centralblatt für Bakteriologie. I. Abt., Referate, Bd. 44.) Preis: 4 Mark.

4. Tagung in Berlin vom 19.—21. Mai 1910. Mit 7 Kurven und 9 Abbildungen im Text. (Beiheft zum Centralblatt für Bakteriologie. I. Abt., Referate, Bd. 47.) Preis: 6 Mark.

5. Tagung in Dresden in der Internationalen Hygiene-Ausstellung vom 8.—10. Juni 1911. (Beiheft zum Centralblatt für Bakteriologie. I. Abt., Referate, Bd. 50.) Preis: 5 Mark.

6. Tagung in Berlin vom 30. Mai — 1. Juni 1912. (Beiheft zum Centralblatt für Bakteriologie. I. Abt., Referate, Bd. 54.) Preis: 7 Mark.

7. Tagung in Berlin vom 31. März — 2. April 1913. (Centralblatt für Bakteriologie. I. Abt., Referate, Bd. 57, Nr. 14—22.) Preis: 7 Mark 20 Pf.

Weltsprache und Wissenschaft.

Gedanken über die Einführung der internationalen Hilfssprache in die Wissenschaft.

Von

L. Couturat,
früher Prof. an der Univ. Caen, jetzt Paris,

O. Jespersen,
Prof. an der Univ. Kopenhagen,

R. Lorenz,
Prof. an der Akademie für Sozial- und Handelswissenschaften Frankfurt a. M.,

W. Ostwald,
em. Prof. an der Univ. Leipzig (Groß-Bothen),

L. v. Pfaundler,
em. Prof. an der Univ. Graz.

Zweite, durchgesehene und vermehrte Auflage.

1913. (VIII, 154 S.) **Preis: 2 Mark.**

Inhalt: 1. **Die Sprache.** Von Wilhelm Ostwald. — 2. **Das Bedürfnis nach einer gemeinsamen Gelehrtensprache.** Von Leopold von Pfaundler. — 3. **Die Delegation pour l'adoption d'une langue auxiliaire internale und die geschichtliche Entwicklung der Ido-Sprache.** Von Richard Lorenz. — 4. **Sprachliche Grundsätze beim Aufbau der internationalen Hilfssprache,** mit einem Anhang zur Kritik des Esperanto. Von Otto Jespersen. — 5. **Ueber die Anwendung der Logik auf das Problem der internationalen Sprache.** Von Louis Couturat. — 6. **Das Verhältnis der internationalen Sprache zur Wissenschaft.** Von Richard Lorenz. — 7. **Die wissenschaftliche Nomenklaturfrage.** Von Wilhelm Ostwald. — 8. **Die chemische Nomenklatur.** Von Wilhelm Ostwald. — 9. **Zur physikalischen Nomenklatur.** Von Leopold von Pfaundler. — 10. Schlußwort: **Lesen, Schreiben und Sprechen.** Von Leopold von Pfaundler.

Beilagen: 1. Probeseite aus dem internationalen Lexikon. 2. Grammatik, Wortbildung, grammatikalische Wörter. 3. Textprobe; ein praktisches Experiment. 4. Auszug aus den Statuten der Uniono por la linguo internaciona. 5. Unions por la linguo internaciona leitender Persönlichkeiten. 6. Alphabetisches Verzeichnis der Orte mit Ido-Gruppen nach Ländern geordnet. 7. Verzeichnis der Ido-Zeitschriften.

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Die Immunitätsfrage bei der Trypanosomenkrankheit der Frösche.

Von

Polina Mendeleeff-Goldberg.

(Hierzu Tafel 16 u. 17 und 9 Textfiguren.)

Inhaltsverzeichnis.

I. Historisches.
II. Morphologische Beschreibung der vegetativen Froschtrypanosomen.
III. Technik.
IV. Kulturen.
1. Morphologische Veränderungen unter dem Einflusse des verschiedenen Mediums.
2. Cytologische Untersuchungen, Kern, Caryosom und Protoplasma bei den jungen und alten Kulturen.
V. Ernährung der Parasiten.
VI. Tierversuche.
VII. Einfluß der Temperatur auf die Kulturtrypanosomen und deren Empfindlichlichkeit gegen die verschiedenen osmotischen Unterschiede.
VIII. Die Immunitätsfrage.
1. Versuche mit inaktiviertem und reaktiviertem Froschblute.
2. Impfversuche an Kaulquappen mit Kulturtrypanosomen.
3. Immunisierung der Frösche und die Anpassungsfähigkeit der Trypanosomen an das Froschblut.
4. Abschwächung der Immunität durch höhere Temperatur oder durch die Erkrankung der Frösche.
5. Entwicklungscyclus der Trypanosomen in bezug zu der Immunitätsfrage.
IX. Ergebnisse.
Literaturverzeichnis.
Tafelerklärung.

Historisches.

Die vorliegenden Untersuchungen an *Tryanosoma rotatorium* Gruby wurden im zoologischen Institut München auf Anregung von Herrn Prof. Doflein angestellt. Ich möchte ihm an dieser Stelle für alle hierbei erteilten Ratschläge und Winke meinen aufrichtigsten Dank aussprechen. Des weiteren ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Prof. Dr. R. Hertwig für das meiner Arbeit entgegengebrachte große Interesse meine Dankbarkeit zum Ausdruck zu bringen. Schließlich möchte ich Herrn Dr. Jollos für so manche wichtige Mitteilungen und Herrn Dr. Kämmerer für die liebenswürdige Bereitwilligkeit, mit der er mir die notwendigen Apparate des Klin.-med. Institutes zur Verfügung stellte, meinen besten Dank sagen.

Im Blut von *Rana temporaria* und besonders von *Rana esculenta* findet man Trypanosomen, die von vielen Autoren schon ausführlich beschrieben und untersucht worden sind. Die Schilderungen sind bei allen Autoren so verschieden, daß man bis jetzt noch zu keinen übereinstimmenden Resultaten über die Tiere gekommen ist. Die Abweichungen in der Beschreibung sind sowohl in morphologischer als auch in entwicklungsgeschichtlicher Beziehung auffallend verschieden und sogar die Benennung und die systematische Einreihung des Tieres hat viele Wandlungen durchgemacht. Die Parasiten sind schon im Jahre 1842 von Gluge gesehen worden. Im Jahre 1843 wurden sie von Mayer als *Paramaecium loricatum* und *Amoeba rotatoria* bezeichnet. Im Jahre 1844 hat Gruby dem Tiere den Namen *Trypanosoma rotatorium* gegeben und trotz dieser passenden Bezeichnung haben noch andere Autoren versucht, dem Tiere andere Namen beizulegen. Wedel wollte es *Globularia radiata* benennen, Lieberkühn schlägt vor, es in *Monas rotatoria* umzutaufen und im Jahre 1880 will Gaule die Tiere überhaupt aus dem Tierreiche ausschalten, da er glaubte, daß sie aus den Leucocyten des Froschblutes entstanden sind.

Erst von den neuen Forschern ist der alte Name wieder aufgenommen worden und die Tiere werden jetzt von allen Autoren übereinstimmend als *Trypanosoma rotatorium* Gruby bezeichnet. Da man aber in einem infizierten Frosch Trypanosomen von verschiedener Gestalt antrifft, so sind für die Erklärung dieser Tatsache die verschiedensten Theorien aufgestellt und die verschiedensten Deutungen gegeben worden. Athias und França haben die verschieden aussehenden Trypanosomen als verschiedene Arten be-

schrieben, indem sie die Tiere in *Trypanosoma postatum*, *Trypanosoma loricatum*, *Trypanosoma rotatorium*, *Trypanosoma elegans* usw. eingeteilt haben. Im Jahre 1907 hat Doflein die Ansicht ausgesprochen, daß die verschieden aussehenden Tiere zu einer Art gehören müssen, die ihre Form nur durch die Anpassungsfähigkeit gewechselt haben. Im Jahre 1910 hat Lebedeff die verschiedenen Formen wieder in chromidiale, sterile, indifferente und gewöhnliche Typen eingeteilt. Endlich im Jahre 1911 werden die verschiedenen Trypanosomenformen von A. Machado als geschlechtlich verschiedene Typen differenziert. Wenn ich auch die Untersuchungen von anderen Autoren an dieser Stelle nicht erwähne, so zeigt doch schon diese kleine Übersicht, wie verschieden die Ansichten über die Trypanosomen sind.

Morphologische Beschreibung.

Meine Untersuchungen und die vorliegenden Experimente stehen Doflein's Auffassung über die Anpassungsfähigkeit der Tiere näher und geben auch weitere Beweise dafür, daß alle die verschiedenen Formen zu den Trypanosomen einer Art angehören müssen. Ich möchte die verschieden aussehenden Trypanosomen in zwei Gruppen einteilen: Zu der ersten gehören die Trypanosomen, die in den großen Blutbahnen der Frösche leben; die zweite Gruppe bilden diejenigen Formen, die nur in einigen Organen vorkommen. Ich möchte hier fünf Hauptformen erwähnen, welche wie von Athias und França, so auch von Lebedeff, Laveran und Mesnil und anderen Forschern früher beschrieben wurden. Man findet in den großen Blutbahnen wie auch im Herzen und in der Lunge drei verschieden aussehende Trypanosomenformen. Am häufigsten bekommt man die großen plumpen Formen zu sehen, welche von Athias und França als *Trypanosoma costatum* beschrieben, bei denen eine deutliche Längsstreifung den ganzen Körper durchzieht und eine feine Granulation das Plasma zwischen den Streifen ausfüllt (Textfig. A).

Textfig. A.

Die undulierende Membran der Trypanosomen ist in ständiger Bewegung begriffen, der Körper selbst aber bewegt sich so langsam, daß man ruhig von einer Unbeweglichkeit des Körpers sprechen

könnte. Viel beweglicher erscheint eine andere Form, die der vorigen sehr ähnlich ist. Wenn man bei der ersten Form die Streifen sich wegdenkt und die gleichmäßige Granulation durch den ganzen Körper gehen läßt, außerdem die undulierende Membran in eine lange Geißel auszieht, so hat man die genaue Beschreibung des zweiten Typus, der von LEBEDEFF als gewöhnliche Form beschrieben wurde.

Die lange Geißel ist in ständiger schneller Bewegung zu sehen. Durch das schnelle Hin- und Herpendeln werden fortwährend neue Stöße an die undulierende Membran abgegeben, diese pflanzen sich auf den ganzen Körper fort, wodurch das Tier zu einer Drehung oder Rotierung gebracht wird. Die wellenartige Bewegung der undulierenden Membran kann in zwei Richtungen verlaufen, wodurch auch die Drehung des Tieres in zwei Richtungen erfolgen kann. Wenn die Wellen von den Blepharoplasten nach oben, zu der Spitze der Geißel verlaufen, wird das ganze Tier von links nach rechts gedreht. Die Bewegung findet eine Zeitlang in der gleichen Richtung statt, dann hört sie für einige Sekunden auf, die Geißel läßt in der schnellen Bewegung nach, die Wellen wechseln ihre Richtung und fangen an von der Spitze der Geißel nach unten zu verlaufen. Nach der Theorie der Geißelbewegung muß man annehmen, daß das Plasma seine Strömung gewechselt hat, wodurch dann die rotierende Bewegung des Tieres auch die entgegengesetzte Richtung angenommen hat (Textfig. B). (Nach ATHIAS und FRANÇA.)

Textfig. B.

Außer diesen zwei Typen trifft man in den großen Blutbahnen der infizierten Frösche noch einen dritten Typus, der durch seine geringe Größe und die schnelle Bewegung sich von den beiden anderen unterscheidet (Textfig. C).

Textfig. C.

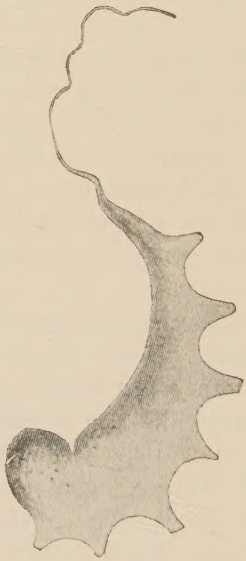
Das kleine rundliche Tier, das in der Größe nur wenig die Leucocyten übertrifft, hat ein dünnflüssiges Plasma, welches unmittelbar in die undulierende Membran übergeht und durch die Bewegung der Geißel in Rotation gebracht wird. Von A. MACHADO sind diese Formen öfters bei den brasilianischen Fröschen gesehen worden. Ich

konnte dieselben nur in seltenen Fällen in den Präparaten treffen. Wenn die Auffassung von Machado richtig ist, daß diese Formen als Jugendformen im Froschblute entstanden sind, so hätte man sie auch bei unseren Fröschen öfters sehen müssen. Es ist von Interesse, an dieser Stelle die Auffassung des alten Physiologen Gaule zu erwähnen; er läßt diese Typen aus den Leucocyten des Froschblutes entstehen, da er die Entstehung des kleinen Trypanosomentypus aus einer Kugel beobachtet hat. Es gelang ihm zu sehen, wie an einer Seite der Kugel die undulierende Membran sich ein wenig abhob, sich in eine Geißel auszog und das ganze Tier sich mit einer schwachen Drehung zu bewegen begann. Ich kann nicht bestimmt sagen, ob die Trypanosomen im tierischen Körper die Gestalt runder, Leucocyten ähnlicher Kugel beibehalten, ich kann aber mit Gaule bestätigen, daß die kleinen Trypanosomen im infizierten Blut, ganz plötzlich im mikroskopischen Gesichtsfelde auftreten. Es ist schwer denkbar, daß die Jugendformen so plötzlich und in einzelnen Exemplaren im Froschblut auftreten können. Man könnte nach diesen Beobachtungen eher denken, daß die Trypanosomen in dem tierischen Körper als kleine Kugeln zu liegen pflegen, und auf diese Weise gegen den inneren Blutdruck oder giftige Stoffe widerstandsfähig sind.

Außer diesen drei verschiedenen Typen, die man in den Blutbahnen findet, möchte ich noch zwei Typen erwähnen, die aber nur in den Organen des Wirtes gesehen wurden. Der eine Typus wurde von mir ausschließlich in der Niere der infizierten Frösche gesehen und bloß einmal bemerkte ich diese auch im Blute eines Frosches, welcher 3 Wochen in einem Aquarium von 32° C gehalten worden war, und durch hohe Temperatur, sowie Hunger sehr geschwächt war. In den feinen Kapillargefäßen der Niere sind die Trypanosomen von langer und schmaler Gestalt, etwa von 44—50 m Länge und 7—11 m Breite mit einer kammartigen undulierenden Membran an einer Seite versehen, welche mit ihrem Randfaden in die lange Geißel übergeht. Mit dem unteren Pole kleben die Tiere an die Blutkörperchen oder an das Epithel der Nierengefäße und sind daher nur mit der Geißel und der Membran eine Bewegung zu machen imstande. Der Körper dieser Trypanosomen ist gestreift und zwischen den Streifen ist eine feine, der oben bei Typus 1 entsprechenden Granulation zu sehen. In der Niere von stark infizierten Fröschen findet man manchmal eine richtige Anhäufung von solchen Trypanosomen. Bei einem Frosche wurde in einem Tropfen von dem Nierenexsudat 36—40 Individuen gezählt, während in den großen

Blutbahnen kaum 1—2 Individuen der drei erst beschriebenen Typen in einem Tropfen zu sehen waren. Diese Trypanosomen gleichen dem Typus 1 so sehr, daß ich den Nierentypus als ein Teilungsstadium des ersten ansehen möchte (Textfig. D). Neben diesem Typus möchte ich zum Schluß noch einen erwähnen, der infolge seiner auffallend raschen Bewegung gar nicht im Leben untersucht werden kann. Sein flüssiges Protoplasma geht unmittelbar in die undulierende Membran über und durch den Randfaden nach vorn in eine ganz lange Geißel. Wegen der schnellen Bewegung und des ständigen Wechsels der Gestalt sieht das Tier bald lang und schmal, bald rund oder spiralförmig aufgewickelt aus. Es kreist im hängenden Tropfen in größeren Spiralen, bis das Präparat austrocknet (Textfig. E).

Textfig. D.



Textfig. E.

Mit diesen fünf Formen möchte ich die Schilderung der Froschtrypanosomen beschließen. Es gibt sehr viele Übergangsformen, von denen LEBEDEFF sehr schöne Bilder gezeichnet hat, welche aber bald dem einen, bald dem anderen von mir beschriebenen Typen näherstehen. Wenn ich hier von der Auffassung DOFLEIN's ausgehe, daß alle die Formen zu den Trypanosomen einer Art gehören, so muß wohl die Ursache der Gestaltsverschiedenheit darin zu suchen sein, daß die Parasiten in dem Wirtstiere selbst unter verschiedenen Bedingungen aufgewachsen sind. Von diesem Gesichtspunkte aus drängt sich die Annahme auf, daß die Formänderungen der Trypano-

somen im Frosche noch weiter gehen müssen, wenn man entweder die Frösche in ungünstige Lebensbedingungen bringt oder die Aufenthaltsbedingungen der Parasiten durch Einspritzung chemischer Reagenzien in das Blut des Wirtes direkt beeinflußt.

Wenn man einem infiziertem Frosch etwa 1 ccm von 1 proz. Natriumcitratbouillon subkutan einspritzt, tritt beim Frosch, durch Einwirkung des fremden Eiweißes eine temporäre Lähmung der hinteren Extremitäten ein. Während der Dauer der Lähmung wurde das Blut auf Trypanosomen untersucht. Nach 10 minutenlanger Einwirkung der Flüssigkeit sehen die Trypanosomen viel breiter wie gewöhnlich aus, die Streifen weichen immer mehr auseinander, als ob das ganze Tier sich seinen Streifen entlang spalten wollte (Fig. 50—51). Nach zwei Stunden beginnen die Trypanosomen sich wieder zusammenzuziehen und die frühere Gestalt anzunehmen. Auch der Frosch aber beginnt sich von der Lähmung zu erholen, so daß in 24 Stunden der Wirt und der Schmarotzer wieder das frühere Aussehen gewonnen haben. Entsprechende Versuche sind außerdem mit 0,75 proz. und 0,35 proz. physiologischer Kochsalzlösung gemacht worden, aber weder die Frösche noch die Trypanosomen haben irgendwelche Änderungen gezeigt. Dieser Versuch zeigt also, daß die Gestaltsänderung der Trypanosomen eng mit dem Zustande des Wirtes verbunden ist und vielleicht auch durch ihn bedingt wird.

Was geschieht nun aber mit den Trypanosomen, wenn das Wirtstier stirbt? Um das festzustellen, wurden zwei stark infizierte Frösche abgetötet und 24 Stunden im Zimmer gelassen. Nachher wurde das Herzblut tropfenweise entnommen und untersucht. Es zeigte sich, daß die großen Trypanosomen nach 2—3 Stunden der Beobachtung ihre Streifen aufgelöst haben und die Granulation den ganzen Körper gleichmäßig bedeckt hat. Das Plasma schrumpfte allmählich zusammen, bis daß nach weiteren 7 Stunden der ganze Leib sich zu einer Kugel zusammengeballt hat; die undulierende Membran umgab kreisförmig die Kugel wie ein bewegliches Band, welches mit ihren wellenartigen Bewegungen anzeigte, daß das Tier noch lebte. Nach weiteren 17 Stunden war bei der Kugel nur die lange Geißel zu sehen, die undulierende Membran hatte sich um die Kugel so herumgewickelt und an sie angelegt, daß von ihr gar nichts mehr zu sehen war. In 48 Stunden platzte die Kugel und das granulierte Plasma floß auseinander (Textfig. F).

Es ist klar, daß man diese Abkugelung der Trypanosomen als eine Absterbeerscheinung zu bezeichnen hat. Ich konnte solche Ab-

kugelung der Tiere einige Male im Froschblute beobachten und im hängenden Tropfen verfolgen, außerdem wurde das Gleiche auch in der Bouillon, in welcher das frische infizierte Froschblut aufgeschwemmt war, gesehen. So kann man hier auch die Behauptung aufstellen, daß die Trypanosomen in vollster Abhängigkeit von dem Wirtstiere sind. So wie sie ihre Gestalt und Form bei der Erkrankung der

Textfig. F.

Frösche wechseln können, so müssen die Parasiten bei dem Absterben des Wirtes auch zugrunde gehen, da sie sich aus den Blutbahnen desselben nicht befreien können. Außerhalb des tierischen Körpers aber kann mit den Trypanosomen zweierlei geschehen: entweder kugeln sich die Tiere ab und gelangen so zum schnellen Absterben oder die großen Formen verwandeln sich in kleine chritidienförmige Gebilde und lassen sich dann lange Zeit fortzüchten. Was

diese Züchtung der Trypanosomen anbetrifft, so gelang es zuerst Bouet durch Verwendung von Agar-Nährböden die Tiere zu erhalten. Mac Neal und Novy haben dazu einen Blutagar-Nährboden angegeben, der fernerhin von allen Forschern für die Züchtung des *Trypanosoma rotatorium* benutzt wurde. Nachdem ich mich überzeugt habe, daß man mit den großen Froschtrypanosomen keine weiteren Experimente machen könne, da die Tiere starr sind, und nur sehr langsame Gestaltsänderungen zeigen, so habe ich meine besondere Aufmerksamkeit auf die Trypanosomen des künstlichen Nährbodens gerichtet, in der Erwartung, außerhalb des Wirtstieres ganz andersartige und besonders interessante Veränderungen beobachten zu können.

Technik.

Alle Forscher, die sich mit der Züchtung des *Typanosoma rotatorium* beschäftigt haben, benutzten immer den oben erwähnten Mac Neal und Novy Nährboden. Ich habe außer diesen noch andere anzuwenden versucht, um zu sehen, ob die Trypanosomen ihre Gestalt unter dem Einflusse der verschiedenen Mediums wechseln können. Es wurde ein Glycerin-Agar-Nährboden verwendet, der so bereitet war, wie man ihn für bakteriologische Zwecke gewöhnlich benutzt. Zu einer größeren Menge des Fleischgehaltes wurde noch Glycerin zugesetzt, um einen fett- und eiweißreichen Nährboden zu bekommen. Daneben ist der sogenannte Ragit-Agarnährboden benutzt worden, der von der Firma Merk in Darmstadt bezogen wurde. Der Nährboden ist dem ersten gleich, nur ist er glycerinfrei und hat den Vorzug, daß die Vorbereitung dessen sehr einfach ist. Man löst das von Merk bezogene Pulver in einem Liter Wasser auf, sterilisiert es und der Nährboden ist schon gebrauchsfertig. Als dritter Nährboden wurde noch der sogenannte Nährstoff-Heyden verwendet, der durch seine Fettarmut ausgezeichnet ist. Alle diese Nährböden sind verschiedentlich mit Kaninchen-, Meerschweinchen-, Ziegen- und Menschenblut gemischt worden. In ein Reagenzröhrchen, das etwa 5—7 ccm hoch mit der Nährflüssigkeit gefüllt war, wurde bei 45° C je ein 1 ccm von dem sterilen defibrinierten Blute zugesetzt, und nach dem Durchschütteln läßt man die Nährböden schief erstarren. Dann läßt man die Röhrchen 24 Stunden in den Thermostaten bei 37° C stehen, was die Absetzung des Kondenswassers begünstigt und außerdem auch zur Prüfung der Sterilität des Bodens notwendig ist. Da es aber noch vorkommen kann, daß einige Luftbakterien in die Nährböden hineingeraten, die sich bei der

gewöhnlichen Temperatur besser entwickeln können, als in der Wärme, so ist ein weiteres 24stündiges Belassen der Röhrchen im Zimmer zu empfehlen. Erst nach diesen Vorsichtsmaßregeln sind die Nährböden für die Kulturen verwendbar. Die Kulturen selbst werden folgendermaßen angelegt: Das infizierte Froschblut wird mit einer sterilen, fein ausgezogenen Glaskapillare aus dem Herzen entnommen. Das Blut wird sofort aus der Kapillare in ein kleines Röhrchen mit einem ccm 1 proz. Natriumcitratbouillon hineingegossen und durchgeschüttelt. Man wiederholt bei einem Frosche einige Male diese Blutentnahme, indem man jedesmal eine andere sterile Kapillare und ein anderes Bouillonröhrchen nimmt. Wenn man schnell arbeitet, so gelingt es bei einem Frosche 5—6 von solchen Aufschwemmungen zu machen und auf diese Weise $1^1/_2$—2 ccm Blut von einem Tiere zu entnehmen, bevor das Froschblut in dem Herzen geronnen ist. Man läßt die Blutaufschwemmungen 24 Stunden im Zimmer stehen. Wenn Bakterien in die Röhrchen hineingelangt sind, so wird die Bouillon durch das von den Bakterien hämolysierte Froschblut lackfarben rot. Die steril gebliebenen Röhrchen dagegen müssen ganz klar bleiben, und das Froschblut liegt als ein feiner roter Niederschlag am Boden des Gläschens. Nur letztere Röhrchen sind für die Kulturen verwendbar. Man schüttelt den Niederschlag und gießt je einen halben ccm in die Blutagar-Nährböden hinein, indem man jedesmal die Ränder der beiden Röhrchen sorgfältig an der Flamme abbrennen läßt. Nach dieser Methode angelegte Kulturen haben sich monatelang steril erhalten und bloß 8—9 Proz. der gesamten Kulturen waren durch Bakterien verunreinigt. Es ist ziemlich schwer alles zu vermeiden, was die Sterilerhaltung der Kulturen gefährden könnte, man kann aber behaupten, daß die Bakterien in die Kulturen nie aus dem Froschblute, sondern erst sekundär aus der Luft hineingelangen. Das möchte ich hier ausdrücklich betonen, entgegen der Annahme Lebedeff's, daß es sich um aus dem zirkulierenden Froschblut stammende Bakterien handle, welche auf dem Nährboden sich nur langsam entwickelten. Das normale Froschblut, wenn es gleich nach dem Abtöten dem Frosche entnommen wird, ist immer bakterienfrei. Wenn man aber das tote Tier etwa 1—2 Stunden liegen läßt, so findet man die Bakterien nicht nur in den Organen, sondern auch in den Blutbahnen. Die Bakterien durchsetzen bei dem toten Tiere so schnell alle Organe und auch die Blutgefäße, daß es nicht Wunder nimmt, wenn Lebedeff bei den toten Fröschen, die er in den Teichen gefunden hat, die Bakterien in dem Blute gesehen hat. Es wurde von mir wiederholt die

Schnelligkeit des Eindringens der Bakterien in die Organe geprüft. Ich konnte feststellen, daß die Bakterien schon nach 10—15 Minuten in der Leber, Niere und Milz sich stark vermehrten. Im Herzen, in der Lunge und den großen Blutgefäßen tritt die große Bakterienansammlung erst nach 1—2 Stunden auf. Für das morphologische und cytologische Studium der Tiere sind die Trypanosomen teils lebend, teils in Dauerpräparaten untersucht worden. Um die morphologischen Änderungen zu beobachten, wurden die Trypanosomen im hängenden Tropfen in vivo nach der von Dr. Mandelbaum angegebenen Methode, die er für die *Spirocheta pal.* benutzt hat, gefärbt. Die Methode ist sehr schnell und leicht ausführbar und hat sich als sehr praktisch bewährt. Man setze einem Tropfen der Kulturflüssigkeit (oder dem frisch entnommenen infizierten Froschblut) einen kleinen Tropfen Löffler's Methylenblau gleichzeitig mit einem Tropfen von $^1/_{10}$ normaler Natronlauge zu und das Präparat ist fertig. Für die cythologischen Untersuchungen wurden die Ausstrichpräparate immer mit heißer Schaudinn'scher Lösung fixiert, wobei nur darauf zu achten ist, daß die Präparate möglichst schnell in die Flüssigkeit kommen. da das Plasma der Tiere sehr schnell an der Luft gerinnt. Am besten kocht man die Flüssigkeit in einer Petri-Schale auf, in welche die Präparate gleich nach dem Ausstreichen der Kultur hineingeworfen werden, wo sie einige Sekunden bleiben müssen. Die Präparate werden dann in schwache Jod-Alkohollösung, 70 proz. Alkohol, Aqua-Destil. und in die Farbe gebracht. Die Präparate wurden teils mit Giemsa-Romanowsky oder mit Rosenbusch's Eisen-Hämatoxylin (einer für das Kernstudium besonders günstigen Methode) gefärbt.

Kulturen.

Außerhalb des tierischen Körpers auf allen den obengenannten Nährböden erfahren die Trypanosomen eine derart totale Veränderung der Gestalt, Form und Größe, daß man in den kleinen Flagellaten die ursprünglichen Tiere kaum wieder zu erkennen vermag. Schon am 3. Tage nach der Kulturanlage findet man in allen Agarröhrchen die gleichen chritidienförmigen Individuen, die sich schnell bewegen und durch rasch aufeinanderfolgende Teilung sich stark vermehren. Es wurde zunächst versucht, die Trypanosomen auf einem Agarnährboden, ohne irgendwelchen Blutgehalt zu züchten, aber es stellte sich heraus, daß die Tiere bloß wenige Tage am Leben bleiben. Anders war es bei den Blutagarnährböden. Die

Vermehrung der Trypanosomen ging viel schneller vor sich, und die Tiere nahmen die verschiedensten Formen, je nach den verwendeten Blutsorten, an. Nach dem Verhalten der Froschtrypanosomen zu den vier gebrauchten Blutarten, möchte ich die Kulturen in zwei Gruppen teilen. Der ersten sollen diejenigen Kulturen angehören, die auf Kaninchen- und Meerschweinchenblut gewachsen sind. Und die zweite Gruppe bilden diejenigen, welche auf Menschen- und Ziegenblut gezüchtet waren. Es ist hier aber nicht meine Absicht, die genaue Beschreibung von all den Formen der Kulturtrypanosomen zu geben, da es schon Doflein in seinen experimentellen Studien über die Trypanosomen getan hat. Ich möchte nur auf die morphologische, dem Medium entsprechende Änderungen der Tiere eingehen und auch die Formähnlichkeit derselben mit den Formen aus dem Froschblute hinweisen. Die auf dem Kaninchenblut gezüchteten Kulturen weisen, am 3. Tage nach der Anlage, viele freischwimmende Individuen auf, die mit einer Geißel bewaffnet, schnell den schmalen Körper in der Flüssigkeit des Nährbodens fortbewegen können (Fig. 31—32). Die Trypanosomen machen weiter rapide Teilungen durch. In wenigen Tagen bekommt man eine reiche Trypanosomenansammlung in den Kulturröhrchen. Mit der Vermehrung treten auch Gestalt und Formänderungen der Tiere auf. Neben den freischwimmenden Individuen treten festsitzende, längliche, breite herpetomonasähnliche Formen auf (Fig. 33—34) oder birnförmige und auch ganz runde Individuen (Fig. 35), in deren Körper eine Ansammlung von lichtbrechenden Körnchen zu bemerken ist. Man kann in den kräftigen, sich stark vermehrenden Kulturen, alle möglichen Übergangsstufen von den spirochätenähnlichen bis zu den ganz runden verfolgen, die bald freischwimmend, bald festsitzend sind. Infolge der schnellen aufeinanderfolgenden Teilungen kommt es oft vor, daß die Tochtertiere durch die unvollständige Abtrennung von den Muttertieren an denselben mit dem einen oder dem anderen Pole verbunden bleiben. Das hindert aber die Tiere bei ihrer weiteren Teilung nicht im geringsten, wobei die Teilung immer von dem freien Ende anfing. Auf diese Weise werden die sogenannten Rosetten gebildet (Textfig. G).

Nach 3—4 monatlicher Züchtung aber tritt ein allmählicher Ausgleich der Form auf, so daß man in den alten Kulturen 5—6 verschiedene Formen der Tiere auffindet, die jetzt dauernd in den Kulturröhrchen erhalten bleiben.

Auf Meerschweinchenblut weisen die Trypanosomen die nämlichen chritidienförmigen Individuen auch am 3. Tage nach der

Kulturanlage auf. Die freischwimmenden Chritidien bleiben aber 15—20 und auch 30 Tage unverändert in den Röhrchen erhalten, es tritt in dieser Zeit weder eine Teilung noch eine Gestaltsänderung der Tiere auf. Nach 25—30 Tagen fangen die Trypanosomen plötzlich an, sich ganz schnell zu teilen, so daß die Kulturen in wenigen Tagen von Trypanosomen erfüllt erscheinen. Es scheint, daß die Trypanosomen im Meerschweinchenblut Stoffen begegnen, welche ihrem Gedeihen und ihrer Entwicklung hinderlich sind und die sie scheinbar erst nach geraumer Anpassungszeit wirksam zu überwinden vermögen, was sich dann durch die plötzliche reiche Vermehrung ankündigt. Diese Anpassung der Tiere an das Meerschweinchenblut ging in allen sechs Kulturen gleich langsam vor sich. Übrigens spricht für diese Anpassung die bemerkenswerte Tatsache, daß die schließlich an diesen Nährboden angepaßten Tiere einen besonders hohen Grad von Empfindlichkeit gegen andere Flüssigkeiten zeigten. In allen Kulturen wird nämlich bei der langen Züchtung der Trypanosomen das Kondenswasser teils durch die Verdunstung, teils durch die Ernährung der Tiere verbraucht. Um die Kulturen noch länger erhalten zu können, wird das fehlende Kondenswasser mit einigen Tropfen von 1 proz. Natriumcitratbouillon ergänzt. Die Meerschweinchenblutkulturen gehen bei Zusatz von dieser Lösung wie auch von 0,6 proz. physiologischer Kochsalzlösung in wenigen Minuten zugrunde.

Textfig. G.

Die zweite Gruppe, welche die Kulturen des Menschen- und Ziegenblutes bilden, sind dadurch charakterisiert, daß am 3. Tage nach der Kulturanlage neben den chritidienförmigen Individuen eine Form der Trypanosomen auftritt, welche von Doflein als echte Trypanosomform bezeichnet wurde. Auf Menschenblutagarnährboden sind diese echten Trypanosomen kleine 15—20 μ lange Individuen, deren Körper länglich und feingranuliert ist, und eine dünne undulierende Membran von der Mitte des Körpers bis zu der Mitte der Geißel durchgeht (Fig. 36—37). Der Körper ist an seinem unteren Pole, wo eine Granulaanhäufung zu sehen ist, klebrig, und die

Tiere bleiben mit dem Ende am Nährboden oder auch am Deckgläschen haften, während das andere Ende frei mit der Geißel und der undulierenden Membran sich bewegen kann. Nach 5—6 monatlicher Züchtung fangen die kleinen echten Trypanosomen zu degenerieren an, indem sie die undulierende Membran allmählich verlieren, die Herpetomonas- und Chritidiengestalt wieder annehmen, und so mit den anderen Kulturen der ersten Gruppe wieder identisch werden. Hier und da treten im Menschenblutkulturen 45—50 μ lange Individuen auf, die sich einige Zeit in den Röhrchen erhalten lassen. Diese Typen zeichnen sich durch die langsame binäre Teilung, durch die Unbeweglichkeit des Körpers, der mit seinem unteren Pole auch am Nährboden haftet, und durch die bewegliche lange Geißel aus (Fig. 39—40).

Auf Ziegenblutnährboden treten neben den oben beschriebenen Typen schon am 3. Tage die großen echten Trypanosomen auf, die auch 44—45 μ in der Länge und 5—10 μ in der Breite haben (Fig. 38). Der Körper von diesem Trypanosom (in vivo beobachtet) ist zart, fast durchsichtig und enthält keine lichtbrechenden Körnchen, wie der aller anderen Formen. Das dünnflüssige Plasma geht ohne merkbaren Übergang in die undulierende Membran über, welche durch ihre wellenartige Bewegung dem Körper fortwährend Stöße mitteilt und dadurch die Plasmaströmung verursacht. Die Vermehrung der großen echten Trypanosomen geht auffallend langsam vor sich. Die Tiere spalten sich einige Male der Länge nach, die Tochtertiere bleiben neben den Muttertieren liegen und zeigen eine schwache Bewegung am vorderen Körperteil. Nach 14 Tagen verschwinden aber diese großen Trypanosomen aus der Kultur, statt ihrer treten alle anderen Formen auf, darunter auch die kleinen echten Trypanosomen, die wir auf Menschenblutagar gesehen haben. Es ist besonders zu bemerken, daß die großen echten Trypanosomen der Ziegenblutkulturen den anderen Trypanosomen, die wir in der Niere von manchen Fröschen gesehen haben, ähnlich sind. Länge und Breite, Form und Bewegung stimmen durchaus überein, nur zeigen die Kulturtrypanosomen keine Granulation und keine Streifung. Außerdem haben diese zarten Trypanosomenformen weder eine scharf ausgeprägte alveolare Struktur, noch irgend welche Nahrungsvacuolen oder Nahrungspartikelchen im Körper. Wenn diese Trypanosomen dem Nierentrypanosomtypus entsprechen, so besitzen sie doch auf dem künstlichen Nährboden ganz andere Eigenschaften wie in der Froschniere. Während die Trypanosomen im tierischen Körper zur Entwicklung gelangen, da sie dort die ihnen zusagende Nahrung

finden, vermögen sie es auf dem künstlichen Nährboden nicht, so daß die Tiere in kurzer Zeit zugrunde gehen. Nach längerer Züchtung gleichen sich auch die Ziegenblutkulturen mit den anderen aus, indem die echten Trypanosomen aus der Kultur verschwinden. Man kann also diese Einteilung in zwei Gruppen nur bei jungen Kulturen machen, so lange die Tiere noch ihre ursprünglichen Eigenschaften nicht verloren haben und durch den Einfluß des künstlichen Nährbodens noch nicht zur Degeneration gekommen sind.

Bei Betrachtung der morphologischen Veränderungen der Tiere liegt es nahe, in den verschieden gestalteten Tieren nach einer geschlechtlichen Differenz zu suchen. Obgleich aber die Kulturtrypanosomen sich längere Zeit geteilt und vermehrt haben, und die unter sich gleichen Formen derselben sich in der entsprechenden Kultur stets konstant erwiesen haben, so konnte ich doch weder eine geschlechtliche Differenz noch eine Verschmelzung beobachten. Man ist leicht geneigt, die schmalen spirochätenähnlichen Individuen als die männliche Form anzusehen und das daneben liegende Tier, mit dem es an einem Ende verschmolzen ist, als die weibliche. Es ist mir aber nie gelungen, eine Verschmelzung derselben zu beobachten. Es ist zu vermuten, daß diese spirochätenähnlichen Trypanosomen durch heteropole Teilung des großen Muttertieres entstanden sind und ich konnte auch die allmähliche Lostrennung der Tiere voneinander beobachten. Bei längerer Betrachtung der Tiere im hängenden Tropfen kann man beobachten, wie infolge der allmählichen Austrocknung des Tropfens ein Moment eintritt, in welchem das Mutter- und das spirochätenähnliche Tochtertier plötzlich wieder verschmelzen. Bei seinen Untersuchungen wurde Lebedeff durch diese Verschmelzung so getäuscht, daß er sie als Befruchtungsvorgang beschrieben hat. Diese falsche Schlußfolgerung erklärt sich daraus, daß er sich auf eine einzige Beobachtung stützt, welche an einem Präparat gemacht wurde, das schon lange unter dem Mikroskope gelegen hatte und daher eben höchst wahrscheinlich dem Austrocknen nahe war. Doflein nennt diese spirochätenähnlichen Formen Hungerformen, eine Bezeichnung, die nicht ganz berechtigt erscheint im Hinblick darauf, daß ich das Auftreten dieser Formen nie in der Kultur beobachten konnte, in welcher das Kondenswasser verdunstet war, bei denen man doch eher berechtigt ist, von Hunger zu reden. Im Gegenteil: in solchen Kulturen treten ganz breite, mit einigen Kernen versehene Formen auf; die freischwimmenden Formen verschwinden auf Kosten der festsitzenden und es ist wohl

nicht denkbar, daß nur die weiblichen Tiere erhalten wurden, indem die schmalen männlichen eher zugrunde gegangen waren.

In dem zarten Körper der Kulturtrypanosomen findet man gewöhnlich einen großen Kern, dem man die ganze vegetative Funktion zugeschrieben hat und außerdem noch einen kleinen, den man als einen Blepharoplasten bezeichnet, dessen Funktion aber bis jetzt noch nicht mit Sicherheit festgestellt ist.

Der Hauptkern der Kulturtrypanosomen ist bläschenförmig, rund, von achromatischer Substanz erfüllt. In der Mitte dieser Substanz oder an eine Seite gedrängt liegt ein kleines, kompaktes, chromatinreiches Korn, das man mit Hartmann als Caryosom bezeichnet. Die Größe des Kernes bleibt bei den alten und jungen Kulturtrypanosomen ganz gleich. Das Caryosom aber erfährt merkbare Veränderungen mit dem Wachstum und der Vermehrung der Tiere. Die jungen Kulturtrypanosomen haben in den ersten Wochen nach der Kulturanlage ein ganz kleines Caryosom, in dem man keine feinere Struktur erkennen kann (Fig. 1—2). Es ist überhaupt sehr schwer, wie die Struktur so auch die Kernteilung bei den jungen Kulturtrypanosomen zu beobachten, da die Teilung so schnell vor sich geht, daß man weder Mitose noch Spaltung verfolgen kann. Es ist aber möglich, festzustellen, daß die Teilung des Kerns und des Blepharoplasten in zwei Richtungen vor sich gehen kann. Die Kerne können sich sowohl der Länge des Tieres, als auch der Quere nach spalten. Da aber die Teilung des Kernes und des Blepharoplasten nicht immer simultan verläuft, sondern häufig auch jeder Kern für sich die Teilung durchmacht, so sind oft in einem Tiere entweder zwei Kerne neben einem Blepharoplasten (Fig. 3—5) oder zwei Blepharoplasten neben einem Kerne zu sehen (Fig. 6—8). Außerdem kann sich der Blepheroplast z. B. in der Richtung der Längsachse des Tieres spalten, während die Teilung des Kernes in der Querachse vor sich gegangen war (Fig. 9—10); oder auch umgekehrt, daß der Kern in der Längsachse des Tieres seine Teilung durchführte und der Blepharoplast die andere Richtung eingeschlagen hat (Fig. 11—12). Ebenso kann natürlich die Teilung der beiden Kerne im gleichgerichteten Sinne statt haben (Fig. 13—15). Man muß hier betonen, daß die Teilung des Trypanosomenkörpers immer in der Längsachse des Tieres verläuft. Wenn also der Hauptkern sich quer geteilt hat, so wird die Teilung des Körpers dadurch nur verhindert und die Kerne müssen sich entweder nochmals in der Richtung der Längsachse des Tieres teilen und jedem Tochtertiere je zwei Hauptkerne zuteilen oder der Hauptkern muß

eine Drehung um 180° erfahren um auf diese Weise die Längsachse des Tieres zu befreien. So kann man in den Kulturtrypanosomen oft sehen, wie bald der Hauptkern, bald der Blepharoplast die Teilung des Körpers hindern. Andererseits ist zu sehen, daß der in der Richtung der Längsachse geteilte Kern oder Blepharoplast gleich den Beginn der Teilung des Körpers an dem Ende, an welchem die liegen, beeinflussen; auf diese Weise beginnen die Trypanosomen bald an einem Ende, bald an dem anderen sich zu spalten. Wenn die Hauptkerne aber ihre Teilungen etwas langsamer ausführen wie der Blepharoplast, so spaltet sich die Geißel mit dem vorderen Körperteile einige Male durch und so werden Individuen gebildet, die bei Besitz von einem oder zwei Kernen mehrere fächerartig angeordnete Geißeln aufweisen, denen ebenso viele Blepharoplaste entsprechen.

In den 3—4monatlichen Kulturen, wo die Tiere ihre Teilung nicht so schnell durchführen, nimmt auch die Kernteilung in der Geschwindigkeit ab, so daß man wie die Struktur so auch den Teilungsprozeß der Kerne einigermaßen beobachten kann. Das Charakteristische für die alten Kulturen ist, daß der Blepharoplast näher an den Kern rückt und manchmal selbst innerhalb der Kernkontur zu liegen scheint. Beim Beginn der Teilung prägt sich in der Mitte des Carysoms ein heller, gefärbter Binnenraum aus, in welchem ein dunkel gefärbtes Korn zum Vorschein kommt, welches man mit Hartmann als ein Centriol bezeichnen kann. Das Centriol deutet gewöhnlich die Teilung des Kernes an in der Weise, wie es Prowazek bei den anderen Trypanosomen geschildert hat, indem es sich in die Länge zu einer hantelförmigen Gestalt auszieht, dadurch die umliegende chromatische Substanz des Caryosoms auflockert und auch zur Teilung zwingt (Fig. 21—22). Schließlich wird das ganze Caryosom in eine Mitose ausgezogen (Fig. 23) und die weitere Teilung erfolgt wie gewöhnlich, indem die chromatische Substanz sich mitotisch teilt und die achromatische in gleichen Hälften den beiden Tochterkernen mitgibt. Wenn aber das Caryosom die angegebene hantelförmige Gestalt nicht angenommen hat, so kann es verschiedene Dimensionen in dem bläschenförmigen Kerne annehmen. Es kann vorkommen, daß das Caryosom den ganzen Kern seiner chromatischen Substanz ausfüllt, so daß keine achromatische Substanz zu sehen ist (Fig. 25—26). Es kann sich aber, durch den inneren Druck vermutlich getrieben, in kleine Bröckchen zersplittern, welche sich im Kreise an den Rändern des Kernes verteilen (Fig. 27—28). Die beginnende Centriolenteilung

ist sehr schwer festzustellen, wenn dasselbe in der Mitte des Caryosoms liegt und eng von der chromatischen Substanz derselben umschlossen ist. Anders ist es, wenn das Centriol seine Lage außerhalb des Caryosoms, einfach in der achromatischen Substanz des Kernes einnimmt. Da kann man auch deutlich sehen, daß das Centriol das leitende Element in der Kernteilung ist, da es auch außerhalb des Caryosoms die Teilung anfängt. Diese merkwürdige Lage des Centriols wurde auch von früheren Autoren bei den Trypanosomen anderer Art gesehen. Wenn Hartmann, Jollos, Prowazek und andere Autoren dieses kleine Korn als ein Centriol gedeutet haben, so wird er von Kühn und Schuckmann, von Wassilevski und Hirschfeld als ein Randkörper beschrieben, welcher „vor der Teilung des Gesamtkernes seine Teilung durchmacht, und dessen Hälften dann an die Teilungspole des Kernes heranrücken und in die Tochterkerne gelangen". Nachdem ich aber in den nach Rosenbusch gefärbten Präparaten das Centriol in der Mitte des Caryosoms gesehen und die Teilung dessen vor der Teilung des Caryosoms beobachtet habe, so bin ich geneigt, mit Hartmann das kleine Korn außerhalb des Caryosoms als identisch mit dem ersten zu bezeichnen.

Bei der Beschreibung des Körperbaues der Tiere ist hier die charakteristische alveolare Struktur zu betonen, die an dem unteren breiteren Pole des Tieres durch große Vacuolen verdeckt ist, während nach der Geißel zu die wabige in eine homogene Struktur der Geißel und der undulierenden Membran übergeht. Bei den jungen chritidienförmigen Trypanosomentypen wurde nur eine kleine Zahl der Vacuolen an dem breiteren Pole gezählt, in den älteren Kulturtrypanosomen dagegen wird das ganze Plasma von Vacuolen durchsetzt, in welchen größere und kleinere lichtbrechende Tröpfchen zu sehen sind. Allmählich wird das ganze Plasma des ganzen Tieres in lauter Vacuolen umgearbeitet und es werden auch hie und da in der Geißel selbst die lichtbrechenden Körnchen gefunden. Diese auffallende Vacuolisierung des Plasmaleibes der Kulturentrypanosomen hängt wohl innig zusammen mit den allgemeinen Gestaltsveränderungen, welche aber ihre letzte Ursache wahrscheinlich in den völlig anderen Nahrungs- und Osmoseverhältnissen finden.

Ernährung.

Wenn man die Kulturtrypanosomen lebend in dem hängenden Tropfen betrachtet, so fallen sofort die lichtbrechenden Körnchen auf, welche in den Vacuolen aufgespeichert sind. Doflein hat diese

lichtbrechenden Körnchen untersucht und als Fettkörperchen bestimmt, da dieselben sich mit Sudan III rot gefärbt haben. Diese Fettkörnchen werden wie in den jungen, so auch in den alten Kulturtrypanosomen gefunden, nur ist ihre Anzahl bedeutend verschieden. Während man bei den jungen chritidienförmigen Tieren 3—4 kleine Tröpfchen findet, sind die älteren Individuen fast vollständig mit dem Fette erfüllt, so daß viele ihre Bewegungsfähigkeit einbüßen, bis man nur an dem schwachen Pendeln der Geißel erkennen kann, daß die Tiere am Leben sind. Hie und da aber treten in den Kulturen Individuen auf, die keine Fettkörnchen in dem Plasma aufweisen, und zwar sind das die großen echten Trypanosomen der Ziegenblutkultur, welche weder die wabige Plasmastruktur zeigen, noch die Fettvacuolen erkennen lassen und nur eine kurze Zeit auf dem Nährboden leben können. Es ist klar, daß die Fettkörnchen als Reservestoffe in dem Trypanosom aufgespeichert sind. Ob mehr oder weniger Fett in den Tieren vorhanden ist, hängt erstens von der allmählichen Anpassung der Trypanosomen an den künstlichen Nährboden und außerdem von dem Fettgehalte des Nährbodens selbst ab. Auf dem glycerinhaltigen Nährboden z. B. haben die Trypanosomen größere Fettaufspeicherung in den Vacuolen aufgewiesen wie auf dem glycerinfreien, z. B. Heyden-Nährstoff oder Ragit-Nährboden gezüchtete Tiere. Auch haben auf Menschenblut gezüchtete Trypanosomen einen größeren Fettgehalt als die auf Meerschweinchen- und Ziegenblut gehaltenen Tiere. Es ist also ersichtlich, daß die Nahrungsstoffe direkt dem Medium entzogen und in den Trypanosomen aufgespeichert werden. Es fragt sich nur, ob die Fettansammlung etwas den Kulturtrypanosomen Spezifisches ist? Wenn man die großen vegetativen Froschtrypanosomen in dem frisch entnommenen Blutstropfen nach Zusatz eines Tropfens Sudan III im hängenden Tropfen betrachtet, so sieht man feine, rot gefärbte Körnchen zwischen den Streifen des Tieres in großer Menge aufgespeichert liegen (Fig. 44). Man bemerkt aber sofort, daß die kleinen Granula kompakt und nicht lichtbrechend sind. Außerdem sind die Körnchen nicht in den Vacuolen eingeschlossen, sondern im ganzen Körper zerstreut, sie dringen in alle Falten des Körpers ein und nur die Geißel und die undulierende Membran, welche noch lange nach der vitalen Färbung mit Sudan III ihre Bewegungsfähigkeit beibehalten, bleiben von Granula frei. Da die Lichtbrechung nur die flüssigen Fette bei der mikroskopischen Betrachtung geben, so müssen die nicht lichtbrechenden Körnchen der großen Trypanosomen als feste Fette angesehen werden. Indem sich in bezug auf das

Fett der Kultur- und der vegetativen Trypanosomenformen wichtige Unterschiede vorfinden, so ergibt sich, daß die physiologischen Vorgänge im Trypanosoma mit der Gestaltsänderung in Korrelation stehen. Außer den beschriebenen morphologisch-physiologischen Unterschieden der Fette in den Blut- und Kulturtrypanosomen, ist auch ein verschiedenes Verhalten der beiden Fettarten gegenüber den physikalischen (Temperatur) und chemischen Einflüssen bemerkenswert. Während die festen Körnchen der blutbewohnenden Formen durch die höhere Temperatur von 37—38° C nicht verändert werden, erreichen die in den Vacuolen der Kulturtrypanosomen vorhandenen Fettstoffe ihren Auflösungspunkt schon bei der Temperatur zwischen 36 und 37° C. Während die Fette der Kulturtrypanosomen mit Leichtigkeit in Chloroform, Äther, Äther + Alkohol, Alkohol absolut. aufgelöst werden, erfolgt dagegen die Auflösung der festen Körnchen bei den lebenden großen Bluttrypanosomen sehr langsam und nicht immer vollkommen. Beide Fettarten werden aber durch Osmium oder auch Osmiumdämpfe geschwärzt. Es ist deswegen nicht zu empfehlen, die Ausstrichpräparate mit Osmiumdämpfen zu fixieren, da die Fettkörnchen als kleine schwarze Klümpchen mitfixiert werden. So erklärt sich der Irrtum Lebedeff's, der sie für Chromidialkörner hielt. Nach Unna's und Golodetz's Untersuchung der organischen Fette sollen unter ihnen nur die Ölsäuren und die Ölsäureverbindungen das Vermögen der Osmiumsäurereduktion zeigen. Auch soll nach den Fettuntersuchungen von Rinya Kawannura die Ölsäure eine spezifische Färbereaktion geben, wenn man sie mit Nilblau oder Neutralrot färbt. Die Fette der Kulturtrypanosomen geben also die charakteristische Sudan III (orangerote), Färbung, lassen sich rot mit Neutralrot und blau mit Nilblau färben, außerdem weisen sie auch keine doppelte Lichtbrechung auf und sind als flüssige Tröpfchen aufgespeichert, woraus man auch schließen kann, daß es Fette der Oleinsäuregruppe sind. Es fragt sich weiter, ob die Fette der Bluttrypanosomen zu den Fetten derselben Gruppe zugehören? Die Fette weisen nämlich keine Lichtbrechung auf, woraus ich schließen möchte, daß sie in den Tieren in einem festen Zustande sich befinden, aber trotzdem die gleiche Farbenreaktion wie die Kulturtrypanosomenfette liefern. Die gleiche Farbenreaktion geben aber auch die Lecithine, mit denen man die Fette in Beziehung bringen könnte. Andererseits aber hat Artur Meyer (1912) bewiesen, daß die „Lecithine nie als Reservestoffe dienen" können. So möchte ich nur die Vermutung aussprechen, daß die festen Fette der Froschtrypanosomen als Oleinsäureverbindungen in den Tieren

aufgespeichert liegen. Es ließe sich noch die Frage aufwerfen, ob man die Fette der Trypanosomen nicht als Degenerations- und Absterbeprodukte der Zelle auffassen könne, wie es Rössle für die Amöben behauptet hat; doch im Hinblick auf alles oben Gesagte ist diese Frage wohl ohne weiteres zu verneinen, da es auch a priori undenkbar ist, daß die sowohl bei den Kulturtrypanosomen als auch bei den vegetativen Froschtrypanosomen sich zeigenden Fettkörperbildungen als degenerative Verfettung erklärt werden könnten. Besonders klar können wir die Bedeutung der Fette als Nahrungs- und Reservestoffe noch aus dem Umstande erkennen, daß die Trypanosomen, welche keine Fettgranula im Körper haben, nicht lange in den Kulturen erhalten bleiben, und daß auch eine zu geringe Menge von Granula, bei ungünstigen Kulturbedingungen, d. h. wenn die Kulturen in einer niedrigen, der Entwicklung nicht förderlichen Temperatur oder auf einem Nährboden, wo kein Kondenswasser mehr vorhanden war, gehalten wurden, die Vernichtung der Tiere herbeiführte. Nur diejenigen Trypanosomen, die eine größere Ansammlung von den Granula hatten, ließen sich eine längere Zeit auf den gegebenen Nährböden erhalten. Die verschiedenartigen Fette der Kultur und der vegetativen Trypanosomenformen sind nur als Folgen des verschiedenen Mediums aufzufassen. Diese Tatsache gibt uns den besten Beweis von der großen Anpassungsfähigkeit der Tiere sowohl an die organischen Stoffe des Wirtes, als auch an die künstlichen Nährböden. Nachdem es sich also gezeigt hat, daß die Froschtrypanosomen aus dem Blut und die Kulturtrypanosomen sehr ähnliche Nahrungs- und Reservestoffe verbrauchen und nachdem die Kulturtrypanosomen auf allen gegebenen Nährböden sich reichlich vermehrt und große Anpassungsfähigkeit gezeigt hatten, wollte ich dieselben wieder in den tierischen Körper zurückbringen, um sie wieder an die ursprünglichen Verhältnisse zu gewöhnen.

Tierversuche.

Durch die Anregung von Prof. Doflein und durch die Versuche von Wendelstädt und Fellmer, denen es gelungen war, das *Trypanosoma lewisi* von Warmblütern auf Kaltblüter zu übertragen veranlaßt, wollte ich auch das *Trypanosoma rotatorium* an das Blut von Kaltblütern anpassen und dann allmählich von einem Tier auf das andere die Impfungen durchführen. Die Kulturtrypanosomen wurden zunächst den Kaltblütern eingeimpft, und zwar folgenden: *Bufo vulgaris, Rana esculenta, Rana temporaria, Hyla arborea, Bombinator, Salmo*

fario und Kaulquappen von *Rana temporaria*. Schließlich versuchte ich auch die Impfung an Warmblütern, und zwar wählte ich Meerschweinchen und Kaninchen dazu.

Eine reich wachsende Kultur wurde zunächst in 1 proz. Natriumcitratbouillon aufgeschwemmt, durch Mischung der gleichen Menge von Kondenswasser der Kultur und von Bouillon. Die Aufschwemmung ließ ich 24 Stunden im Zimmer stehen, um mich zu überzeugen, daß die Trypanosomen durch die Bouillon nicht gelitten hatten und auch keine Bakterien hineingekommen waren. Einer *Bufo vulgaris* wurden 0,5 ccm von der Trypanosomenaufschwemmung subkutan mit einer feinen Impfnadel eingeimpft. In 24 Stunden prüfte ich das Blut der Kröte, aus der Fingerspitze entnommen, auf Trypanosomen. Da man aber keine Trypanosomen finden konnte, wurde die Impfung zum zweiten Male wiederholt, um nach den weiteren 24 Stunden zum dritten Male zu impfen. Dann wurde die Kröte getötet und sorgfältig alle Organe, so auch die großen Blutgefäße untersucht, aber es war nirgends eine Spur von den Trypanosomen zu sehen. Bei der zweiten *Bufo vulgaris* wurde die Impfung anders durchgeführt, und zwar so, daß 0,5 bis 1 ccm von der Aufschwemmung mit einer fein ausgezogenen Capillare dem Tiere einverleibt wurde, indem man vorher mit der Schere ein kleines Loch in die Haut der Kröte geschnitten hat. Nach fünf Minuten wurde die erste Probe mit einer Platinöse aus dem Loche entnommen und gleich im hängenden Tropfen untersucht. Es stellte sich heraus, daß die Trypanosomen ihre Bewegung eingebüßt hatten und nur die schwache Bewegung der Geißel zeigte, daß die Tiere nicht tot waren. Nach weiteren 5 Minuten wurde wieder eine Probe entnommen und nun zeigte sich, daß die Trypanosomen vollständig gelähmt waren und nach dem Verlaufe von weiteren 5—10 Minuten hatten sich die Tiere in der Kröte abgerundet und manche fingen auch an, sich aufzulösen. Nach 24 stündiger Einwirkung war von den Trypanosomen nichts mehr zu finden und nun wurde in die gleiche Öffnung der Haut eine frische Trypanosomenaufschwemmung hereingegeben. Die Kulturtrypanosomen wurden aber in gleicher Weise in 5—15 Minuten vollständig abgetötet. Da man vermuten konnte, daß die Trypanosomen durch das Sekret der Hautdrüse der Kröte getötet worden waren, so wurde die Impfung bei weiteren zwei Kröten interperitoneal durchgeführt. Es wurde 1 ccm der Aufschwemmung den Kröten im Abstande von je 3 Tagen eingeimpft. Nach der vierten Impfung wurden die infizierten Kröten getötet und auf Trypanosomen untersucht. Man konnte wieder keine, weder in den Organen noch in

den großen Blutbahnen, finden und es ist deswegen zu vermuten, daß die Tiere durch die Peritonealflüssigkeit in der gleichen Weise abgetötet wurden, wie es bei der subkutanen Impfung geschehen war.

Die gleichen Impfungen und mit dem gleichen Mißerfolg wurden ausgeführt bei *Rana esculenta* und *Rana temporaria*, die längere Zeit auf Trypanosomen geprüft waren. Die Frösche wurden zunächst subkutan, dann interperitoneal geimpft und in beiden Versuchen sind die Trypanosomen abgetötet und aufgelöst worden. Bei einem der behandelten Frösche wurden in der Niere große gestreifte Trypanosomen gefunden, die aber nicht von der künstlichen Infektion der Kulturtrypanosomen herstammten, sondern in dem Gewebe der Niere schon vor der Impfung verborgen gesteckt haben müssen. Es zeigt nur, wie schwer es zu konstatieren ist, ob die Frösche trypanosomenfrei sind oder nicht. Nach diesen Versuchen nahm ich eine Impfung nach der Pfeiffer'schen Methode vor. Die interperitoneale Impfung wurde mit einer dicken Nadel ausgeführt und mit dieser wurden sofort Proben wieder entnommen. Dieser Versuch gab mir die Möglichkeit festzustellen, daß die Trypanosomen durch die peritoneale Flüssigkeit in 5 Minuten vollständig abgetötet werden und in weiteren 10 Minuten war schon keine Spur mehr in dem Exsudate zu sehen. Weitere Impfungen wurden an den kleinen Anurenarten gemacht, und zwar *Hyla arborea* und *Bombinator*. Die Tiere (drei von jeder Art) wurden mit einer Trypanosomenaufschwemmung von 0,5 ccm in einem Zeitabstand von je 4 Tagen dreimal subkutan geimpft. 24 Stunden nach der dritten Impfung wurden zwei von den Tieren getötet und auf Trypanosomen geprüft. Da man aber nichts von den Parasiten finden konnte, so wurden die anderen übrig gebliebenen Tiere noch zweimal interperitoneal mit der Aufschwemmung geimpft und dann auch getötet. Die Impfungen sind mit den verschiedenen Modifikationen noch zweimal wiederholt worden, und zwar immer mit den nämlichen negativen Resultaten. Nachdem die Impfungen an Bachforellen auch mit einem Mißerfolge geendet hatten, wollte ich die Tiere direkt in die Blutbahnen der Warmblüter übertragen, auf deren Blute die Kulturtrypanosomen so gut gewachsen waren. Zunächst versuchte ich die Impfung bei Meerschweinchen zu machen. Es wurde 1 ccm Trypanosomenaufschwemmung interperitoneal nach der früher erwähnten Pfeiffer'schen Methode eingeimpft. Die Versuchsproben wurden sofort im hängenden Tropfen untersucht. Bei sofortiger Entnahme konnte man noch einige Trypanosomen sehen, aber in 5 Minuten schon nicht mehr. Endlich wurde noch folgende Vorbereitung für

die Impfung der Warmblüter vorgenommen. Die Kulturen wurden in höherer Temperatur gezüchtet, um die Parasiten an die Körpertemperatur der Warmblüter allmählich zu gewöhnen. Zunächst wurden die infizierten Frösche etwa 2—3 Wochen in einem Aquarium von 32° C gehalten, dann die von dem Blut dieser Frösche angelegten Kulturen in einem Thermostaten von 25° C, dann etwa 2—3 Wochen in einem anderen von 32° C weiter gezüchtet. Diese sich reichlich vermehrenden Kulturtrypanosomen wurden in das Peritoneum eines Meerschweinchens und in die Ohrvene eines Kaninchens eingeimpft. Beide Versuche endeten aber auch mit einem Mißerfolge. Nachdem es also erwiesen war, daß die Kulturtrypanosomen trotz der großen Anpassungsfähigkeit der Tiere sich doch nicht an den tierischen Körper wieder anpassen können, wollte ich die Ursache dieser Erscheinung feststellen, und die Tiere weiter in den verschiedensten Bedingungen des Druckes und der Temperatur halten.

Temperatur.

Die Kulturtrypanosomen wurden gewöhnlich in Zimmertemperatur gezüchtet. Die niedrige Temperatur des Eisschrankes übt auf die Trypanosomen aber auch keinen schädigenden Einfluß aus und so sind auch die Schwankungen der Zimmertemperatur auf die Kulturen nicht von Bedeutung. Bei 0° bleiben die Tiere längere Zeit unverändert am Leben, nur hört die Teilung und die weitere Vermehrung allmählich auf. Wenn die Kulturen wieder ins Zimmer gebracht werden, so fängt die rapide Teilung von neuem an. In höherer Temperatur, in einem Thermostaten von 25° C können die Trypanosomen sich reichlich vermehren. Es ist aber zu beachten, daß die Trypanosomen sich allmählich mehr abrunden und auch mehr Fett in sich aufspeichern. Nach einiger Zeit, nachdem sich die Trypanosomen an die Temperatur von 25° C gewöhnt hatten, wurden die Kulturen in den Thermostaten von 32° C übergeführt, wo die Vermehrung noch weiter andauerte. Nach 14 Tagen wurden die Kulturröhrchen in den Brutschrank von 37° gebracht. Da gingen aber die Kulturen in 24 Stunden alle ein. Die Fette wurden aufgelöst und die Trypanosomen verschwanden vollkommen aus den Kulturen. Der Versuch wurde wiederholt, indem die infizierten Frösche und nachher die Kulturen in den einzelnen Thermostaten länger gehalten werden. Bei der Temperatur von 37° aber wurden die Trypanosomen in derselben Weise wie vorhin aufgelöst. Diese Versuche haben also die Ursache gezeigt, warum die Impfungen bei den Warmblütern mißlingen mußten. Es fragt sich nun, aus welchen

Gründen die Impfungen an Kaltblütern auch mißlangen? Eine Möglichkeit wäre die gewesen, daß die zarten Kulturtrypanosomen durch den mechanischen großen Druck der tierischen Blutströmung einfach zerrieben wurden. Bei der Kulturführung hat sich nämlich die große Empfindlichkeit der Tiere gegen jeden osmotischen Druck gezeigt. Wenn man in ein Kulturgläschen einige Tropfen Bouillon oder 0,75 proz. physiologische Kochsalzlösung hereinbringt, wurde die Kultur nicht geschädigt, jedoch bei Zusatz von etwa 1 ccm der Flüssigkeit lösten sich die Kulturen völlig auf. Ich habe früher schon die Meerschweinchenblutkulturen erwähnt, die überhaupt keinen Zusatz einer fremden Flüssigkeit von anderem osmotischen Druck vertragen können. Die anderen Kulturen aber können sich den fremden Flüssigkeiten gegenüber, je nach der Konzentration und Menge der letzteren verschieden verhalten. Es wurde eine Ausfiltrierung der Flüssigkeiten gemacht, indem in die verschiedenen Mengen der verschiedenen Flüssigkeiten je ein Tropfen der Kulturflüssigkeiten hineingebracht wurde. Es zeigte sich, daß die Trypanosomen bei 15facher Verdünnung mit 0,75 proz. physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst werden. Bei 0,3 proz. physiologischer Kochsalzlösung genügt aber schon die 8fache Verdünnung (tropfenweise gemessen), um die Trypanosomen zur Auflösung zu bringen, beim gewöhnlichen Leitungswasser genügt die 4—5fache Verdünnung; 1 proz. Natriumcitratbouillon dagegen löst die Trypanosomen erst in 20—25facher Verdünnung auf. Nach dieser Feststellung der außerordentlichen Empfindlichkeit der Kulturtrypanosomen gegen abnorme osmotische Bedingungen schien es auch möglich, daß das ungünstige Mengeverhältnis der eingeimpften 0,5 ccm Kulturflüssigkeit zu der Quantität Blut im lebenden Frosch und die dadurch bedingte plötzliche Ausgleichung des osmotischen Druckes in beiden Flüssigkeiten die Trypanosomen in baldige Auflösung bringt. So hätte man das Mißlingen der Versuche an Kaltblütern nur mechanischen Bedingungen, d. h. dem stärkeren osmotischen Drucke des tierischen Körpers zuschreiben können, wenn ich nicht folgende Versuche angestellt hätte, die wieder ganz andere Ursachen klarlegten.

Immunität.

Es wurden nämlich gleiche Mengen von Kulturflüssigkeit mit frisch entnommenem Tierblute gemischt. Es stellte sich heraus, daß die Trypanosomen weder in dem Blute von *Bufo vulgaris*, *Hyla arborea*, Unken, Forellen, Blutegeln noch in dem Blute von Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen und Menschen aufgelöst oder irgendwie verändert

werden. In dem Blute der infizierten *Rana esculenta* und *Rana temporaria* werden die Trypanosomen aber sofort gelähmt und in wenigen Minuten vollständig aufgelöst. Diese interessante Tatsache ist immer wieder leicht festzustellen, wenn man einem Tropfen der Kulturflüssigkeit einen Tropfen Froschblut zusetzt und gleich im hängenden Tropfen untersucht. Es ist klar, daß da bei dem Auflösen der Tiere keine osmotischen Druckdifferenzen mitspielen konnten und entstand gleich die Frage, ob nicht die Immunität der erwähnten Frösche die Hauptrolle beim Mißlingen der Infektionsversuche gespielt habe? Um diese Frage zu entscheiden, wurden folgende Versuche angestellt. Das Blut eines infizierten Frosches wurde in fein ausgezogenen Capillarröhrchen aufgefangen, die Capillaren unten an der Flamme zugeschmolzen und zentrifugiert, um auf diese Weise das Serum zu gewinnen. Ein Tropfen des Serums wurde mit einem Tropfen der Kultur gemischt und es zeigte sich, daß das Froschserum die gleiche abtötende Kraft auf die Trypanosomen ausübt wie das frische Froschblut selbst. Das zentrifugierte Froschblut wurde dann weiter samt der Capillare auf eine halbe Stunde in den Thermostaten von 60° C gestellt. Nach dem Verlaufe dieser Zeit wurde wieder ein Tropfen von dem Serum mit der Kultur gemischt und das Froschserum konnte nun die Trypanosomen nicht mehr auflösen.

Die vor dem Erwärmen wirkenden Stoffe sind also durch die höhere Temperatur zerstört und hiermit das Serum selbst inaktiv gemacht. Die vielmals wiederholten Versuche mit dem aktiven und inaktiven Froschblut haben auch klargemacht, daß die abtötenden Stoffe spezifische Antitrypanosomen Immunstoffe sind, die nur auf die Kulturtrypanosomen, nicht auf die großen Froschtrypanosomen ihre abtötende Kraft auszuüben vermögen. Es wurde weiter versucht, die zerstörten Stoffe des inaktivierten Froschblutes mit dem Blute von solchen Tieren zu ergänzen, in deren Blut die Kulturtrypanosomen an und für sich nicht aufgelöst werden, und zwar mit dem frisch entnommenen Meerschweinchenserum. Dabei stellte sich heraus, daß das inaktivierte Froschblut seine aktive Kraft wiedergewinnt, wenn man zu einem Tropfen des inaktivierten Froschblutes einen Tropfen von dem Meerschweinchenserum zusetzt. Mit anderen Worten, das inaktivierte Froschblut läßt sich durch das Meerschweinchenserum reaktivieren. Die Antitrypanosomenstoffe sind also keine auf Trypanosomen spezifisch wirkende Antitoxine, da sie sich durch das normale Blut vom Meerschweinchen ergänzen lassen. Es ist in der Serologie anerkannt, daß Meerschweinchen

sehr viele Alexine (Komplemente) in ihrem Blute haben, und da das inaktivierte Froschblut sich durch das Meerschweinchenserum reaktivieren läßt, so möchte ich die thermolabilen Antitrypanosomenstoffe des Froschblutes der Gruppe der Amboceptoren zurechnen. Diese wiederholt gemachten Versuche mit aktivem, inaktivem und reaktivem Blute, bei denen die fehlende Alexine der Kaltblüter sich durch die Alexine der Warmblüter ergänzen ließen, geben den besten Beweis dafür, daß die Immunstoffe der Kaltblüter ganz identisch mit denen der Warmblüter sind. Die Wirkung der Kaltblüteralexine scheint auch von bedeutender Stärke zu sein, da die Stoffe, in geringer Menge verwendet, die Kulturtrypanosomen abzutöten vermögen. Das aktive, stark infizierte Froschblut von *Rana esculenta* kann sogar in 200facher Verdünnung die Kulturtrypanosomen abtöten oder wenigstens lähmen: man kann aber die Verdünnungen des verdünnten Froschblutes so weit führen, daß die Trypanosomen nicht mehr aufgelöst werden, dann wird das verdünnte Froschblut mit dem inaktiviertem Froschblut zu gleichen Teilen gemischt und ein Tropfen von der Mischung einem Tropfen der Kulturtrypanosomen im hängenden Tropfen zusetzt. Es zeigte sich dann, daß die beiden Lösungen, die jede für sich die Trypanosomen nicht lösen können, zusammen die frühere aktive, abtötende Kraft wiedergewonnen haben. Diese Befunde stellen das beste Beispiel für die Komplemente dar, die im Vergleich mit den Fermenten, auch ganz spezifisch wirken können. Es fragt sich aber, wann die Immunstoffe auf die Kulturtrypanosomen und nicht auf die großen vegetativen Formen abtötend wirken? Es ist klar, daß diese Trypanosomen in dem Körper des Tieres eine größere Widerstandsfähigkeit besitzen müssen, um den starken Immunstoffen zu widerstehen. Außerdem scheint es auch, daß die Immunstoffe und die Gegenstoffe der beiden Tiere sich ausgleichend miteinander angepaßt haben und so unschädlich für die beiden sind. Wenn die Frösche eine natürliche, d. h. erbliche Immunität gegen die Trypanosomen besäßen, wären auch die Trypanosomen erblich übertragbar und auch die Kaulquappen müßten die gleiche lösende und abtötende Kraft auf die Kulturtrypanosomen ausüben. Die Kaulquappen, welche ich für meine Versuche verwendete, wurden in dem Aquarium des zoologischen Institutes aufgezogen, so daß sie von außen nicht mit Trypanosomen infiziert werden konnten. Wenn man einen Tropfen Kulturflüssigkeit mit der gleichen Menge Kaulquappenblutes im hängenden Tropfen mischt, so werden die Trypanosomen durch das Blut nicht abgetötet, und in dem Kaulquappenblute selbst sind nie

vorher Trypanosomen gefunden worden. Nachdem ich mich also überzeugt hatte, daß das Kaulquappenblut die Trypanosomen im Vitro nicht auflösen könne, wurden Impfungen an Kaulquappen vorgenommen. Den Tieren wurden je 0,1 ccm Kulturflüssigkeit (ohne Bouillonzusatz) eingeimpft. Die Kaulquappen vertragen die Impfungen sehr gut und nur etwa 6—7 Proz. der Tiere gingen infolge stärkerer Verletzungen ein. Nach 6 Tagen wurden einige Kaulquappen untersucht. In den Organen der Tiere konnte man keine Trypanosomen wiederfinden; in dem Blute des Herzens aber sind die Trypanosomen wieder zum Vorschein gekommen, und zwar Individuen von schlanker, langer Gestalt, genau wie die Form der großen echten Trypanosomen des Ziegenblutes. Nach 8 Tagen, nach 10 und 14 Tagen wurden die Trypanosomen immer wieder im Herzblut der Kaulquappen gefunden. Nach 14 Tagen aber haben die Kulturtrypanosomen eine lange Form angenommen, eine deutliche undulierende Membran und auch eine lange Geißel ausgebildet. Mit dem unteren Pole bleiben die Tiere an den Blutkörperchen haften und die Bewegung ging nur von der Geißel und der undulierenden Membran aus (Textfig. H).

Textfig. H.

Durch diese Versuche wurde klargestellt, daß das Kaulquappenblut weder in vitro noch im tierischen Körper selbst die abtötende Wirkung auf die Kulturtrypanosomen auszuüben vermag. Da die Kaulquappen aber in dem Aquarium des Zoologischen Institutes aufgewachsen waren und vor der Behandlung mit den Kulturtrypanosomen sich nicht infizieren konnten, so kann man hier mit Sicherheit die erbliche Immunität der Frösche verneinen. Es fragt sich aber weiter, warum die gleichen Impfversuche an den ganz jungen Fröschen, die auch im Aquarium des Zoologischen Institutes gezogen wurden und eben die Metamorphose beendet hatten, mißlangen? Die Kulturtrypanosomen sind nämlich in den jungen Fröschen nicht wieder gefunden worden, obwohl das entnommene Blut denen die Kulturtrypanosomen in vitro nicht zur Auflösung zu bringen vermochten.

Es ist schwer die Ursache davon festzustellen, da ich zu wenig junge Frösche gehabt habe. Aber da die zahlreichen Versuche von Lebedeff die nämlichen negativen Resultate zeigten, so kann man hier zwei Möglichkeiten erwähnen, welche die mißlungenen Versuche bedingt haben könnten: Entweder wurden die Trypanosomen durch den stärkeren mechanischen Druck des Blutstromes des größer gewordenen Tieres abgetötet oder die Frösche haben mit dem Eintausch der Pflanzennahrung gegen die tierische eine größere Widerstandsfähigkeit im ganzen Organismus gewonnen. Solange die Frösche im Wasser in der Zeit ihrer Metamorphose sich hauptsächlich von Pflanzen nähren, ist die Widerstandsfähigkeit der Tiere so gering, daß die Parasiten durch die natürlichen Schutzstoffe des Froschkörpers nicht vernichtet werden. Mit dem Übergang zum Landleben und zur tierischen Nahrung produziert der gesamte Froschkörper so viel Schutzstoffe, daß hier die Infektion mit allen anderen Parasiten ebenfalls erschwert sein muß. Nach dieser Auffassung ist es klar, daß die Trypanosomeninfektion der Frösche nur in der Zeit ihrer Metamorphose geschehen kann. Man kann mit Sicherheit auch nicht sagen, ob die Trypanosomen virulente Stoffe produzieren können, die für das Wirtstier pathogen wären. Wenn auch Lebedeff eine Erkrankung der Frösche und ferner die Möglichkeit von Trypanosomenepidemien unter Kaulquappen und Fröschen vermutet, so ist ihm weder der Nachweis einer Giftwirkung auf die Frösche noch der einer starken Vermehrung der Trypanosomen in ihnen gelungen. Bei der künstlichen Infektion der Kaulquappen aber konnte man keine krankhaften Erscheinungen an den Fröschen bemerken. Es muß jedoch hervorgehoben werden, daß die Kaulquappen in ihrem Körper irgendwelche Schutzstoffe haben müssen, welche auf die Kulturtrypanosomen hemmend einwirken, da die geimpften Trypanosomen sofort mit den Teilungen aufgehört haben, sobald sie in dem Kaulquappenkörper hereinkamen. Diese Tatsache weist darauf hin, daß die natürlichen Schutzstoffe zwar in geringen Mengen, aber doch in Tieren vorhanden sind, die allmählich als spezifische Antitrypanosomenstoffe sich weiter entwickeln können. Wenn also die Trypanosomeninfektion auf einem frühen Stadium, wo noch wenige von den natürlichen Schutzstoffen vorhanden sind, geschah, so fangen die Kulturtrypanosomen an, sich an die neuen Lebensbedingungen des Wirtskörpers und auch an die Körper anzupassen, womit auch die Gestaltsänderung der Parasiten eng verknüpft ist. Die Tiere werden allmählich größer, bilden die undulierende Membran aus und gelangen mit dem strömenden Blut in

die verschiedenen Organe des Wirtes, wo sie eventuell auch Teilungen durchmachen können. Der Wirtskörper schützt sich aber mit seinen Antistoffen insofern, als er die Teilung der Parasiten unterdrückt und auf diese Weise die Trypanosomenvermehrung von seinem Körper fernhält; die Trypanosomen werden ihrerseits aber auch gegen den Wirt allmählich widerstandsfähiger. So erreichen die Trypanosomen und Wirtstiere gegenseitig einen gewissen Gleichgewichtszustand, ein gewisses Spannungsverhältnis, in dem die beiden Tierarten miteinander — jede dem anderen unschädlich — leben können. Wenn man aber diesen labilen Zustand stört, indem man für das Wirtstier die Existenzbedingungen verschlechtert, so fangen die Trypanosomen gleich an sich zu teilen und zu vermehren. Wenn man z. B. die Frösche längere Zeit in einem Aquarium bei 32° C hält, bis die Tiere durch die hohe Temperatur und Hunger geschwächt und dem Tode nahe sind, findet man im Blute viele längliche Trypanosomen (Textfig. J) wie sie sonst gewöhnlich nur in der Niere mancher infizierter Frösche gesehen werden. Die Versuche des Physiologen GAULE zeigen noch prägnanter, wie mit der Abschwächung des Wirtskörpers eine Vermehrung der Trypanosomen stattfindet. Er sagt: „Da ich einem Frosche mehrere Male Blut aus der Bauchvene entnommen hatte, war derselbe allmählich sehr blutleer geworden. Ich bemerkte, daß die Trypanosomen in seinem Blute in gleichem Maße häufiger geworden waren, als das Blut sich verdünnter gezeigt hatte. Wenn man einem Frosche das Rückenmark hinter dem Trommelfell durchschneidet, dann die Tiere 2—3 Tage in eine feuchten Wanne im Zimmer aufbewahrt, so findet man in ihrem Blute die Zahl der Trypanosomen außerordentlich vermehrt.“ GAULE hat also die Vermehrung der Trypanosomen mit zunehmender Blutverdünnung festgestellt und somit ein Resultat erhalten, das ebenso wie meine Hunger- und Temperaturversuche, die Abschwächung der Immunität und Aufhebung des Gleichgewichtszustandes zur Ursache hat. In der Natur sind diese extremen Zustände so selten, daß sie für die Verbreitung der Trypanosomen und für deren Vermehrung keine Bedeutung haben. Die Verbreitung und Übertragung der Trypanosomen kann auf diese Weise nicht in der Natur vor sich gehen, sondern wie es bei allen Blutparasiten ist, müssen die Tiere von einem Zwischenwirte wieder

Textfig. J.

zu dem Wirte herübertransportiert werden. Bei den Fischtrypanosomen sind schon mehrere Zwischenwirte beschrieben worden. Bei den Fröschen aber haben wir mit Sicherheit nur die kleine *Hirudo*-Art, die Franca bei den Fröschen gesehen und als *Helobdella algira* auch beschrieben hat. In den Darmwindungen des Wurms wurden von Franca kleine chritidienförmige Individuen gesehen, welche die gleiche Form hatten, wie die „kleinen echten Trypanosomen" der von mir auf Menschenblut gezüchteten Kulturen. Außerdem sind diese Trypanosomen von *Helobdella algira* noch den langen Trypanosomentypen ähnlich, die man bei den Kaulquappen nach der künstlichen Infektion mit den Kulturtrypanosomen findet. Wenn wir diese Befunde von Franca mit den unseren vergleichend zusammenfassen, so können wir folgendes sagen: Da man bei allen Untersuchungen der Kulturtrypanosomen und auch bei den vegetativen Froschtrypanosomen keine geschlechtliche Differenzierung feststellen konnte, so muß die Vermehrung der Trypanosomen auf einem anderen Wege gesucht werden. Die Tiere müssen für ihre Teilung und Vermehrung von der Spannung der tierischen Immunstoffe befreit werden und dann geht der Entwicklungskreis vermutlich ganz einfach vor sich. Aus dem infizierten Froschblute werden die Parasiten von der oben beschriebenen *Hirudo*-Art aufgenommen, in dessen Körper die Tiere ihre schnelle Teilung nach dem Vorbilde unserer Kulturtrypanosomen durchmachen. Nachdem die Teilung einige Zeit gedauert hat und die Trypanosomen eine reiche Vermehrung erfahren haben, werden sie von dem Zwischenwirte in die Kaulquappen zurücktransplantiert. In den Kaulquappen hört die Teilung auf und nun beginnt die Zeit der Anpassung, zugleich auch die Ruheperiode und die Gestaltsänderung der Trypanosomen. Das geht ziemlich langsam vor sich und der Froschkörper, dem die kleinen flagellatenähnlichen Trypanosomen keinen wesentlichen Schaden bereiten, reagiert auch nicht spontan so, daß er sofort reichliche Mengen von dem Immunstoffe produziert. Das kann man daran sehen, daß das Kaulquappenblut nach seiner Infektion die Kulturtrypanosomen in vitro nicht aufzulösen vermag, weder nach 14, 20 und 30 Tagen kann man die Auflösung der Trypanosomen durch das infizierte Kaulquappenblut feststellen. Wenn man dagegen kleine Frösche nimmt, in deren Blute man die großen vegetativen Trypanosomen gefunden hat, so geht die Auflösung der Trypanosomen schnell vor sich. Darauf gestützt kann man folgendes sagen: Die großen Froschtrypanosomen sind als ein Produkt des Anpassungsvermögens der Tiere hervorgegangen. Nur durch die Ausbildung der Immun-

stoffe in dem Wirtstiere können die Parasiten sich so verändern und in der Gestalt eine Ruheperiode durchmachen. Wenn man aber die Trypanosomen von der Spannkraft der Immunstoffe befreit, sei es im Zwischwirt oder auf dem künstlichen Nährboden, so werden die großen Formen in die kleinen kulturtrypanosomenartigen Formen umgebildet. Da aber die Kulturtrypanosomen ihren Widerstand der Spannungsverhältnisse eingebüßt haben, so werden sie durch das infizierte Froschblut durch die vorhandenen spezifischen Stoffe, beim Zusammenmischen sofort abgetötet und aufgelöst. Es bleibt noch die Frage übrig, warum die vegetativen Froschtrypanosomen die verschiedenen Gestalten in dem Froschkörper annehmen? Aber, wie ich oben die große Anpassungsfähigkeit der Parasiten betont habe, ist es auch möglich, daß die Trypanosomen in den großen Blutbahnen, in den Capillaren, in den Organen wie Lunge, Milz und Niere verschiedene Lebensbedingungen finden und durch die Veränderung der Gestalt sich den Lebensbedingungen einfügen. Da die Frösche den Parasiten fast immer das gleiche Medium darbieten, so ist es auch begreiflich, warum man beinahe die gleichen Trypanosomenformen bei unseren Fröschen findet. Wie aber die Trypanosomen von dem Medium abhängig sind, habe ich mit meinen Wärme- und Hungerexperimenten genügend gezeigt und es folgt daraus noch, daß die Trypanosomen in den verschiedenen Gegenden, wo die Frösche unter verschiedenen Lebensbedingungen leben, auch andere Formen annehmen können. Wenn man die früher erschienenen Arbeiten über *Trypanosoma rotatorium* vergleicht, so sieht man, daß LEBEDEFF, ATHIAS und FRANÇA und MACHADO die abweichendsten Gestalten hervorheben. Es wäre noch eine weitere Aufgabe gewesen, diese Frage weiter zu berücksichtigen, wenn man das Vergleichsmaterial vor sich gehabt hätte.

Ergebnisse.

Die Trypanosomen von *Rana esculenta* und *Rana temporaria* gehören alle einer Art an. Durch die Immunstoffe der Frösche und durch die Anpassungsfähigkeit der Parasiten haben sie verschiedene Formen in den verschiedenen Organen und Blutbahnen des Wirtes ausgebildet.

Wenn die großen vegetativen Formen aus dem Wirkungsbereich der Immunstoffe herausgeraten, so beginnen die Tiere sich gleich zu teilen und nehmen kleine chritidienförmige Flagellatengestalt an.

Geschlechtliche Differenzierung ist weder bei den großen vegetativen noch bei den kleinen Kulturformen konstatiert worden.

Die Trypanosomen können sich in dem Froschkörper nur dann vermehren, wenn die Immunität der Frösche abgeschwächt ist, was durch höhere Temperaturen oder durch Erkrankung und Hunger der Frösche bewirkt werden kann.

Das infizierte Froschblut hat das Vermögen, diejenigen Trypanosomen zu töten und aufzulösen, die aus der Spannung der Immunstoffe befreit, sich einige Zeit außerhalb des Wirtskörpers auf den künstlichen Nährböden entwickelt haben.

Das inaktivierte Froschblut, das $^1/_2$ Stunde bei 60° C gehalten worden war, verliert seine schützenden Immunstoffe. Durch Zusatz vom frischen Meerschweinchenserum wird das inaktiv gemachte Froschblut wieder reaktiviert.

Die Immunstoffe der Frösche gehören zu der Gruppe der Amboceptoren, die bei den Kalt- und Warmblütern identisch sein müssen.

Die Entwicklung der Trypanosomen macht einen einfachen Cyklus durch. Von den infizierten Fröschen gelangen die Trypanosomen in den Zwischenwirt, wo sie sich durch rasche ungeschlechtliche Teilungen schnell vermehren und dann in der Zeit der Froschmetamorphose in die Kaulquappen gelangen. In den Kaulquappen hört die Teilung auf und die Trypanosomen passen sich durch die charakteristische Gestaltsänderung dem Wirte an.

Die Übertragung der Trypanosomen besorgt eine Hirudineenart, welche von França als *Helobdella algira* beschrieben wurde.

Literaturverzeichnis.

Bouet: Cultures des Trypanosomes de la grenouille. Ann. de l'Inst. Pasteur T. 20 1906.

Broden: Les Trypanosomes des Grenouilles. Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. Bd. 9 1905.

Chattou et Leger: Sur l'autonomie specifique du Tryp. drosophilae. Compt. rend. des sean. d. l. soc. de Biol. LXX, LXXI.

Doflein: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen, VI. Arch. f. Protistenk. 1910 Bd. XIX p. 207.

— Biologische Untersuchungen an Trypanosomen nebst einer Färbungsmethode. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München 1911.

— Lehrbuch der Protozoenkunde.

Delanoe: L'importance de la Phagocytose dans l'immunité de la souris. Paris 1911. L'Inst. Pasteur.

L. França: Le cycle evolutif des Trypanosomes de la grenouille. Arch. de Real. Inst. Bact. Camara Pestana Bd. II 1908.

França et Athias: Recherches sur les Trypanosomes des Amphibiens. Arch. de l'Inst. Royal de Bact. Camara Pestana Bd. I 1906.

Gonder und Sieber: Experimentelle Untersuchungen über Trypanosomen. Centralbl. f. Bakt., Paras. u. Inf. Bd. XLIX 1909.

Gruby: Trypanosomes sanguinis. Ann. Sec. Nat. Ser. 1844 Vol. I p. 105.

Gaule: Beobachtungen der farblosen Elemente des Froschblutes. Arch. f. Anat. u. Phys. 1880.

Golodetz und P. Unna: Zur Chemie der Haut. Monatsh. f. prakt. Dermatol. 1911.

Hartmann: Über die willkürliche Hervorrufung von Rezidiven bei Protozoen durch künstliche Parthenogenese. Folia serol. Bd. VIII 1911 Heft 6.

Hartmann und Prowazek: Blepharoplast, Caryosom und Centr. Arch. f. Protistenk. 1907 p. 306.

Koch: Schlußberichte über die Tätigkeit der deutschen Expedition zur Erforschung der Schlafkrankheit. Deutsche med. Wochenschr. 46 1907.

Kühn und Schuckmann: Über den Bau und die Teilungserscheinungen von Tryp. Brucei. Sitz.-Ber. Heidelberg Ak. Wiss. Math. nat. Kl. 1911 Abh. 11.

— — Cytologische Studien an Trypanosomen. Zool. Jahrb. XV 2. Bd. 1912 p. 330.

Kolle und Hetsch: Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankh. Berlin 1911.

Keysselitz: Generations- und Wirtswechsel von Trypanosomen. Arch. f. Protistenk. Vol. 7 1906.

Kawamura Rinya: Die Cholesterinesterverfettung. Verlag Fischer 1911.

Lebedeff: Über Trypanosoma rotatorium Gruby. Festschr. z. 60. Geburtstag R. Hertwig Bd. I p. 399.

Laveran et Mesnil: Trypanosomes et Trypanosomiases. Paris 1904.

Machado Astrogildo: Cytologische Untersuchungen über Trypanosoma rotatorium Gruby 1911. Memor. Inst. Oswaldo Aug., Rio de Janeiro.

Mayer: Amoeba rotatorium. Aug. Fr. Jos. K. Specilegium observatorium anat. de organo electrico et de haematozois. Bonn 1843.

Mayer Martin: Pathogene Trypanosomen. Handb. d. path. Protoz. von Prowazek. 3. Liefer. Leipzig 1912.

Mayer und Nocht]: Trypanosomen als Krankheitserreger. Koller und Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. I. Erg. B. H. 2 1906.

Meyer Arthur: Die Zelle der Bakterien. Jena, Verlag Fischer, 1912.

Metschnikoff: Immunität bei Infektionskrankheiten. Jena 1902.

Neal und Novy: Cultivation of Trypanosoma Lewisi. Contribut. to med. Research. 1903 1904.

Prowazek: Die Entwicklung von Herpetomonas. Arb. a. Kaiserl. Gesundheitsamt XX 1904.

— Studien über Säugetiertrypanosomen. Arb. a. Kaiserl. Gesundheitsamt Vol. 22, 1905 p. 351.

— Kritische Bemerkungen zum Trypanosomenproblem. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. N. 10 1909.

Rosenbusch: Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenk. Vol. 15 1909 H. 3.

Robertson Muriel: Transmission of flagellates living in the blood of certain freshwater fishes. Philos. transactions of the Royal soc. of London Series B Vol. 202.

Schaudinn: Generation und Wirtswechsel bei Tryp. u. Spiroch. Arb. a. Kaiserl. Gesundheitsamt 1904.

Schilling: Das Vorkommen von Autogamie bei Trypanosoma Lewisi. Arch. f. Protistenk. Vol. 19 1910.

Wendelstadt und Fellmer: Einwirkung von Kaltblüterpassagen auf Nagana- und Lewisitrypanosomen. Zeitschr. f. Immunität und exper. Ther. 1909.

Werbitzky: Über blepharoplastlose Trypanosomen. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. 1909.

Walker: Trypanoplasma Ranae N. Sp. and its life Cycle in Cultures. The Journ. of Med. Research. Vol. XXIII.

Tafelerklärung.

Tafel 16.

Fig. 1—2. Kern und Blepharoplast der jungen Kulturtrypanosomen.

Fig. 3—5. Teilung des Kernes vor der Teilung des Blepharoplasten.

Fig. 6—8. Zwei Blepharoplasten neben einem Kern.

Fig. 9—10. Die Teilung des Kernes ist in der Querachse vor sich gegangen, während der Blepharoplast sich in der Längsachse gespalten hat.

Fig. 11—12. Die Teilung des Kernes ist in der Längs- und des Blepharoplasten in der Querachse erfolgt.

Fig. 13—15. Teilung des Kernes und des Blepharoplasten in der gleichen Richtung geführt.

Fig. 16—17. Kernketten.

Fig. 18. Rosettenbildung.

Fig. 19—20. Das Verhalten des Blepharoplasten zum Kern.

Fig. 21—22. Teilung des Centriols vor der Teilung des Caryosoms.

Fig. 23. Mitotische Teilung des Kernes und des Blepharoplasten.

Fig. 24. Teilung des Centriols außerhalb des Caryosoms.

Fig. 25—26. Gleichmäßige Verteilung der chromatischen Substanz des Caryosoms im Kern.

Fig. 27—28. Verteilung der Chromatinkörnchen an den Rändern des Kernes.

Fig. 29—30. Vielkernige Individuen aus Hungerkulturen.

Fig. 31—32. Chritidienförmige Individuen.

Fig. 33—34. Herpetomonasähnliche.

Fig. 35. Runde und birnförmige.

Fig. 36—37. Echte kleine Trypanosomen des Menschenblutnährbodens.

Fig. 38—40. Echte große Trypanosomen der Ziegenblutkultur.

Tafel 17.

Fig. 41—42. Froschtrypanosomen aus der Niere mit Giemsa gefärbt, heiß mit Schaudinn'scher Lösung fixiert.

Fig. 43. Die gleichen Nierenformen lebend mit Methylenblau im hängenden Tropfen gefärbt.

Fig. 44. Eine Trypanosomenform aus der Harnblase des Frosches lebend mit Methylenblau gefärbt.

Fig. 45. Fettkörnchen des großen vegetativen Froschtrypanosoms mit Sudan III lebend im hängenden Tropfen gefärbt.

Fig. 46—49. Fetttropfen der Kulturtrypanosomen mit Sudan III lebend gefärbt.

Fig. 50—51. Kleine Trypanosomenformen nach der Behandlung mit Bouillon in dem Wirtstiere.

Fig. 52—53. Große Trypanosomenformen weisen eine Dehnung der Breite nach, nach der Behandlung mit Bouillon, und nehmen nach 24 Stunden die frühere Gestalt wieder an.

1.
2.
3.
4.
5.
6.
19.
20.
18.
24.
29.
22.
25.
27.
21.
26.
28.
23.

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

Mendeleef-Goldberg. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. L. A. Funke, Leipzig.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

HANDWÖRTERBUCH DER NATURWISSENSCHAFTEN

Herausgegeben von

Prof. Dr. **E. Korschelt**-Marburg (Zoologie), Prof. Dr. **G. Linck**-Jena (Mineralogie und Geologie), Prof. Dr. **F. Oltmanns**-Freiburg (Botanik), Prof. Dr. **K. Schaum**-Leipzig (Chemie), Prof. Dr. **H. Th. Simon**-Göttingen (Physik), Prof. Dr. **M. Verworn**-Bonn (Physiologie) und Dr. **E. Teichmann**-Frankfurt a. M. (Hauptredaktion).

Sieben Bände vollständig!

Soeben erschien:

Achter Band:

„Quartärformation — Sekretion".

Mit 964 Abbildungen im Text. (VII, 1210 Seiten. Lex.-Form.) 1913.

Ferner liegen vollständig vor:

Band I: „Abbau—Black". Mit 631 Abbild. (IX, 1163 S.) 1912.

Band II: „Blatt—Ehrenberg". Mit 1101 Abbild. (VIII, 1212 S.) 1912.

Band III: „Ei—Fluoreszenz". Mit 921 Abbild. (VIII, 1236 S.) 1913.

Band IV: „Fluorgruppe—Gewebe". Mit 924 Abbild. (VII, 1284 S.) 1913.

Band VI: „Lacaze-Duthiers—Myriapoda". Mit 1048 Abbild. (VIII, 1151 S.) 1912.

Band VII: „Nagelflue—Pyridingruppe". Mit 744 Abbild. (VII, 1172 S.) 1912.

Preis jedes Bandes: 20 Mark, in Halbfranz geb. 23 Mark.

Bis Ende des Jahres 1913 erscheint noch ein Band und bereits in der ersten Hälfte des Jahres 1914 wird das ganze Werk fertig vorliegen.

Die Lieferungsausgabe ist erschienen bis Lieferung 60.

Das ganze Werk wird 80 Lieferungen zum Preise von je 2 Mark 50 Pf. umfassen bezw. in 10 Bänden vollständig werden.

Der Gesamtpreis ist 200 Mark, gebunden 230 Mark.

Die erste Lieferung kann von jeder Buchhandlung zur Ansicht vorgelegt werden; ein Probeheft (mit 32 Seiten Text) wird kostenfrei geliefert.

Münchener medizinische Wochenschrift, Nr. 31 vom 5. August 1913:

Wie wichtig das Werk für Mediziner, speziell für Biologen, ist, zeigt ein Blick auf Artikel wie Ei und Eibildung (Korschelt), Eiweißkörper (O. Cohnheim), die verschiedenen Kapitel über Elektrizität, Entwicklungsmechanik der Tiere (C. Herbst) u. a. Bei den engen Beziehungen der naturwissenschaftlichen Fächer untereinander ist **ein Werk, das,** wie das vorliegende, **über jede Frage aus den Nachbargebieten die gesuchte Auskunft erteilt,** von unschätzbarem Wert.

Apotheker-Zeitung, Nr. 72 vom 6. September 1913:

Sie zeigen auch die vorliegenden Lieferungen, das dürften die Beispiele beweisen, daß das deutsche naturwissenschaftliche Schrifttum in dem Handwörterbuche um ein hervorragendes Werk bereichert werden wird. **Wem daran liegt,** sich über den heutigen Stand der verschiedenen Zweige der Naturwissenschaften einen der allgemeinen Bildung entsprechenden **Rat und Auskunft zu holen, den dürfte das großzügig verfaßte Werk in jeder Beziehung befriedigen.**

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Allgemeine Biologie.

Von

Prof. Dr. **Oscar Hertwig,**
Geh. Rat, Direktor des anatomisch-biologischen Instituts der Universität Berlin.

Vierte umgearbeitete und erweiterte Auflage.

Mit 478 teils farbigen Abbildungen im Text. 1912. (XVIII, 787 S. gr. 8°.)

Preis: 19 Mark 50 Pf., in Halbfranz geb. 22 Mark.

Inhalt: I. Die Zelle als selbständiger Organismus. Geschichtliche Einleitung. Die chemisch-physikalischen und morphologischen Eigenschaften der Zelle. Die Lebenseigenschaften der Zelle. Die Erscheinungen und das Wesen der Befruchtung. Die Zelle als Anlage eines Organismus. — II. Die Zelle im Verband mit anderen Zellen. Die Individualitätsstufen im Organismenreich. Artgleiche, symbiontische, parasitäre Zellvereinigung. Mittel und Wege des Verkehrs der Zellen im Organismus. Die Theorie der Biogenesis. Die Lehre von der Spezifizität der Zellen, ihren Metamorphosen und ihren verschiedenen Zuständen. Besprechung der Keimplasmatheorie von Weismann. Die Theorie der Biogenesis. Die im Organismus der Zelle enthaltenen Faktoren des Entwicklungsprozesses. Hypothesen über die Eigenschaften des Idioplasma als des Trägers der Arteigenschaften. Das Problem der Vererbung. Ergänzende Betrachtungen. Erklärung der Unterschiede pflanzlicher und tierischer Form durch die Theorie der Biogenesis. Historische Bemerkungen über die Stellung der Biogenesistheorie zu anderen Entwicklungstheorien.

Centralblatt für Physiologie, Band 26, Nr. 17:

Die neue Auflage des bekannten Hertwigschen Buches hat vielfache Erweiterungen erfahren und dementsprechend auch an Umfang gegenüber der früheren zugenommen. Die Strahlenwirkung auf lebende Zellen, das Problem der Geschlechtsbestimmung, die moderne Lehre von den Hormonen und die spezifischen Artbestandteile der Gewebssäfte, die Bastardforschung im Anschlusse an die Mendelgesetze, die mikroskopischen Feststellungen an den Chromosomen sich teilender Zellen sind in der neuen Auflage dem neuesten Stande der Wissenschaft entsprechend berücksichtigt. Der umfassende Ueberblick über die unendliche Fülle des verarbeiteten Details und das klare Urteil und Abwägen des Bedeutsamen, zusammen mit der seltenen Fähigkeit, anregend und fesselnd zu schreiben, haben dem Buche die künstlerische Abrundung und Schönheit bewahrt, die bei den früheren Auflagen, wie bei den anderen Büchern Hertwigs, mit Recht so hoch geschätzt werden. H. Piper (Berlin).

Hedwigia. Februar 1913:

Ueber ein Werk, das in der Hand eines jeden Naturhistorikers ist, kann man nur das Beste berichten, nämlich daß es kein besseres Lehrbuch der Biologie gibt. Matouschek (Wien).

Berliner klinische Wochenschrift. 49. Jahrg., Nr. 44, v. 28. Okt. 1912:

Bei dem Ansehen, das die wissenschaftlichen Arbeiten des Verf. in der ganzen Welt besitzen, ist es unnötig, den hohen Wert des Werkes noch einmal hervorzuheben, der nicht nur darin liegt, daß der Verf. selbst das Gebiet, das er hier darstellt, in weitestem Maße bearbeitet und gefordert hat, sondern auch darin, daß das Werk ein Archiv darstellt, in dem mit größter Sorgfältigkeit alle anderen, einschlägigen Arbeiten berücksichtigt sind.

Münchener medizin. Wochenschrift. 59. Jahrg. Nr. 36, v. 3. Sept. 1912:

Wie auch die früheren Ausgaben stellt das Buch eine äußerst gedankenreiche Zusammenstellung unseres biologischen Wissens in übersichtlicher Form dar. Sobotta (Würzburg).

Archiv f. Hydrobiol. u. Planktonkunde. 1911:

Wie der Gegenstand, den es behandelt, in jeder Hinsicht unerschöpflich ist, so trägt auch dieses monumentale Lehrbuch das Gepräge einer großartigen und nicht genug zu bewundernden wissenschaftlichen Leistung, die als eine Zierde der internationalen biologischen Literatur bezeichnet werden muß. Diesen Eigenschaften entsprechend hat das vorliegende Meisterstück einer zusammenfassenden Darstellung unserer Wissenschaft von der Zelle und ihrer Funktionen binnen zwei Jahrzehnten schon drei Auflagen erlebt. . . . Aus der enormen Fülle des behandelten Stoffes, der in jedem einzelnen Kapitel dieselbe unvergleichlich lichtvolle Darstellung erfährt, kann kaum etwas im besonderen hervorgehoben werden. . . . Es liegt, wie schon gesagt, in dem Hertwigschen Werke ein Lehr- und Handbuch vor, welches für jeden, der sich produktiv mit biologischen Studien beschäftigt, als Wegweiser und Anreger unentbehrlich ist. (Prof. Dr. Otto Zacharias.)

G. Pätz'sche Buchdr. Lippert & Co. G. m. b. H., Naumburg a. d. S.